

**Auswertung von Fluoreszenzbefunden zur Evaluierung der  
Aminolävulinsäure-vermittelten  
Protoporphyrin IX-Fluoreszenzdiagnostik**

**D i s s e r t a t i o n**

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**doctor medicinae dentariae**

**(Dr. med. dent.)**

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Zahnarzt Ahmad Reza Lighvani  
geboren am 21.07.1969 in Tabriz

## Gutachter

1. Prof. Dr. Dr. W. Zenk
2. Prof. Dr. K. Döring
3. PD Dr. S. Koscielny

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.05.2006

# Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abkürzungen:.....	4
1. Zusammenfassung .....	5
2. Einleitung.....	7
2.1. Allgemeine Betrachtung der Plattenepithelkarzinome der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx.....	7
2.1.1. Ätiologie und Epidemiologie.....	8
2.1.2. Klinische Aspekte.....	9
2.1.3. Therapie und Prognose.....	11
2.2. Das TNM-System als Klassifikationsgrundlage.....	12
2.3. Deutsch - Österreichisch - Schweizerischer - Arbeitskreis ( DÖSAK ).....	14
2.4. 5-Aminolävulinsäure-induziertes Protoporphyrin IX.....	16
2.4.1. Applikationsformen und Dosierungen von 5-Aminolävulinsäure.....	16
2.4.2. Porphyrin- und Häm-Biosynthese.....	19
2.4.3. Toxizität.....	21
2.5. Sozioökonomische Bedeutung.....	24
3. Ziele der Arbeit.....	25
4. Material und Methoden.....	26
4.1. Probanden / Patienten.....	26
4.2. Datenerfassung.....	26
4.3. Struktur des klinikeigenen Datenmaterials.....	27
4.4. Präparation und Applikation von ALA.....	29
4.5. Visualisierung der Tumoren.....	29
4.6. Allgemeiner Versuchsaufbau zur Fluoreszenzanregung.....	30
4.7. Probeexzision und Histologie.....	31
4.8. Befundung der Fluoreszenzuntersuchungen.....	31
4.9. Mathematisch-statistische Methoden.....	38
5. Ergebnisse .....	39
5.1. Patienten.....	39
5.2. Verteilung der Primärlokalisation der Tumorarten.....	40
5.3. 5-ALA-induzierte Symptome.....	42
5.3.1. Fluoreszenzdiagnostik.....	42
5.4. Durchschnittsalter und Altersverteilung bei untersuchten Patienten.....	44
5.4. Beurteilung des subjektiven Faktors Arzt.....	49
5.5. Beispiele der bildgebenden Fluoreszenzdiagnostik.....	52
6. Diskussion.....	60
7. Schlussfolgerungen.....	77
8. Literaturverzeichnis.....	79

## Verzeichnis der Abkürzungen:

<b>ALAS</b>	5-ALA-Synthase
<b>ADT</b>	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren
<b>AFU</b>	Autofluoreszenz-Untersuchung
<b>AJC</b>	American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting
<b>ALA</b>	$\delta$ -Aminolävulinsäure
<b>CCD-Kamera</b>	Charge Coupled Device-Camera
<b>CIP</b>	Computerunterstützte Individuelle Prognosestellung
<b>Cis</b>	Carcinoma in situ
<b>DÖSAK</b>	Deutsch-Österreich-Schweizerischer Arbeitskreis für Tumoren im Kiefer-Gesichtsbereich
<b>CT</b>	Computertomographie
<b>EUS</b>	Endoskopische Ultraschalluntersuchungen
<b>FD</b>	Fluoreszenzdiagnostik
<b>HpD</b>	Hämatoporphyrinderivaten
<b>LK</b>	Lymphknoten
<b>MKG-Chirurgie</b>	Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
<b>MRT</b>	Magnetresonanz - Tomographie
<b>NADH</b>	Nikotinamidadenosindinukleotid
<b>OK</b>	Oberkiefer
<b>OMA</b>	Optical multicanal analyser (Optischer Vielkanalanalysator)
<b>PBGD</b>	Porphobilinogen-Desaminase
<b>PE-Ca</b>	Plattenepithelkarzinom
<b>PDD</b>	Photodynamische Diagnostik
<b>PpIX</b>	Protoporphyrin IX
<b>TPI</b>	Therapieabhängige Prognoseindex
<b>ÜR</b>	Überlebensrate
<b>UK</b>	Unterkiefer
<b>UICC</b>	Union Internationale contre le Cancer

## 1. Zusammenfassung

In den letzten Jahren wird eine permanente Zunahme von bösartigen Tumoren beobachtet. Die Ursachen dafür sind nicht vollständig geklärt. Es lässt sich ein sicherer Zusammenhang zwischen steigendem Tabakwaren- und Alkoholkonsum und der Zunahme von bösartigen Tumoren der Mundhöhle finden. Eine steigende Belastung der Bevölkerung mit Umweltgiften und eine genetische Disposition werden ebenfalls nach BATSAKIS (1974) diskutiert.

Bei den gegenwärtig etablierten Therapiemethoden beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate (ÜR) für das Mundhöhlenkarzinom ca. 45 %.

Die ÜR kann bei frühzeitiger Diagnose und Behandlung dramatisch verbessert werden. Die klinische Inspektion der Mundhöhle gibt jedoch erst bei charakteristischen und morphologisch sichtbaren größeren Veränderungen einen Hinweis auf ein malignes Geschehen, sodass sich Frühformen meist einer Diagnose entziehen. Leider werden gegenwärtig nur 30% der Mundhöhlenkarzinome in einem frühen Stadium entdeckt. Sicher spielt dabei auch die relative Symptomarmut der frühen Formen des Mundhöhlenkarzinoms nach BATSAKIS (1974) eine Rolle. So vergeht viel Zeit, bis im späteren Verlauf – wenn unter Umständen schon eine Absiedlung von Tumorzellen in den regionalen Lymphknoten (LK) stattgefunden hat – Schmerzen, Blutungen, Ulzerationen und Störungen der Nahrungsaufnahme auftreten.

In den letzten Jahren gewinnt nach APPLETON et al. (1998) der Einsatz von Farbstoffen mit photosensibilisierenden Eigenschaften für die Fluoreszenzdiagnostik und -therapie rasch an Bedeutung. Die Fluoreszenzdiagnostik (FD) basiert auf einer selektiven Anreicherung von bestimmten nichttoxischen Farbstoffmolekülen im Tumorgewebe. In gesunden Zellen wird der Farbstoff nur in geringen Mengen aufgenommen oder durch den intakten Metabolismus rasch wieder eliminiert.

Die  $\delta$ -Aminolävulinsäure (ALA)-gestützte FD ermöglicht den Nachweis von oralen Mundhöhlenkarzinomen. Auch Tumoren geringer Größe, und in einem sehr frühen Stadium, lassen sich farblich markieren. In Untersuchungen von ZENK et al. (1999) an der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (MKG-Chirurgie) an 246 Patienten mit Mundhöhlenkarzinomen konnten 96% der im Nachgang histologisch nachgewiesenen Tumoren präoperativ über ALA-induzierte Fluoreszenz visualisiert werden. Der hohen Spezifität der Methode steht eine große Anzahl von falsch positiven Befunden gegenüber. Diese traten bevorzugt bei diejenigen Patienten auf, die nach der ALA-Spülung Nahrung (I) zu sich genommen hatten, die eine schlechte Mundhygiene aufwiesen (II) sowie bei den Patienten, bei denen eine Strahlentherapie (III) im orofazialen Bereich vorausgegangen war.

Außerdem zeigten entzündliche Veränderungen (Gingivitis, Aphten) ähnliche Fluoreszenzbefunde (IV).

Da eine Anzahl von pathologischen Veränderungen nahezu identisch erscheinende Fluoreszenzbilder hervorrufen kann, wird eine sichere Diagnosestellung erschwert. Um einen routinemäßigen Einsatz in der Klinik oder Praxis zu ermöglichen, sollen die Grundlagen zur intelligenten Differenzierung der Fluoreszenzbefunde auf der Basis eines neuronalen Netzwerkes geschaffen werden. Gleichzeitig soll die Abhängigkeit der Befundinterpretation vom Ausbildungsstand des untersuchenden Arztes geprüft werden.

## 2. Einleitung

### 2.1. Allgemeine Betrachtung der Plattenepithelkarzinome der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx

Innerhalb der internationalen medizinischen Forschung auf dem Gebiet von Tumorerkrankungen manifestieren sich die malignen Tumoren als zentrales Problem. Sie nehmen nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen den zweiten Platz in der Todesursache hoch entwickelter Industrieländer ein. Bei Betrachtungen der im Kiefer- und Gesichtsbereich vorkommenden Tumoren sind die Lippen-, Mundhöhlen- und Oropharynxkarzinome am zahlreichsten vertreten. Die Häufigkeit zeigt dabei nach MORGENROTH et al. (1996) eine außerordentlich große geografische Schwankungsbreite. Die größte Häufigkeit weisen dabei Länder mit niedrigem Lebensstandard auf. In Deutschland stellen Mundhöhlenkarzinome nach WAGNER et al. (1985) mit 1,3-1,7 % aller Malignome nur eine seltene Tumorentität dar. Im Gegensatz zu dem relativ seltenen Vorkommen der Karzinome in der Mundhöhle steht nach MORGENROTH (1968) der hohe Malignitätsgrad dieser Tumoren. Nach HOWALDT (1989) zeigt sich dieser Sachverhalt anhand der steigenden Tendenz in der Mortalitätsstatistik. Auch in Anlehnung an die demografische Entwicklung nimmt das Krebsproblem weiter zu. Nach GRIMM (1990), BETHMANN (1979) und KRÜGER (1986) ist das Plattenepithelkarzinom (PE-Ca) sowohl in der Mundhöhle als auch im gesamten Kiefer-Gesichtsbereich der am häufigsten vorkommende maligne Tumor. Aufgrund ihrer gravierenden funktionellen und ästhetischen Beeinträchtigung bringen die im Kiefer-Gesichtsbereich lokalisierten Tumoren nach PLATZ und FRIES (1985) erhebliche Probleme für die betroffenen Patienten mit sich.

Die Tumorentstehung definiert sich als zellbiologischer Prozess, bei dem sich nach GRIMM (1990) die Körperzellen dem regelrechten, einer zentralen Steuerung unterworfenen Aufbau des Organismus entziehen. Dieser Prozess charakterisiert sich damit als eine autonome und irreversible Gewebswucherung mit fortschreitendem Wachstum bei eigener Gesetzmäßigkeit. Die Betrachtung von Neoplasien des Plattenepithels zeigt, dass normales Plattenepithel – im Gegensatz zu sinnvollen Zellteilungsbeschränkungen im Interesse des Gesamtorganismus – zu Epithel mit ungezügelter Zellvermehrung und zum Karzinom mit tumorabhängiger Metastasierungsneigung mutiert. Wichtige molekulargenetische und immunologische Aspekte bestimmen dabei Eindringtiefe und Wachstumsverhalten der Karzinome, die Tumorprogression mit Gefäßeinbrüchen, neuraler und lymphangischer Karzinose, den Krankheitsverlauf des betroffenen Patienten und damit die Prognose.

### 2.1.1. Ätiologie und Epidemiologie

Ätiologische Ursachenkombinationen sind bei der Entstehung oraler Präkanzerosen und Karzinome in einer Vielzahl exogener und endogener Noxen sowie in der genetisch determinierten Geschwulstbereitschaft zu suchen. Als wichtigste schädigende Einflussfaktoren bei der Entstehung werden von BURKHARDT (1980), PINDBORG (1982) und HEINER et al. (1983) der hohe Tabak- und der im Ansteigen begriffene Alkoholkonsum angesehen. Alkoholabusus und schlechte Mundhygiene in Kombination mit einem mangelhaften Sanierungsgrad des Gebisses führen nach REICHART et al. (1991) zu einer Prämorbidität der Mundschleimhaut im Sinne chronischer Entzündung.

Nach GRIMM (1990) kennt man eine beachtliche Reihe tumorbegünstigender Faktoren, wie sie chronische Traumen und wiederholt gestörte regenerationsfähige Vorgänge darstellen. In Wechselwirkung mit immunologischen Veränderungen durch Virus- und Pilzbefall sowie durch an der Schleimhaut etablierte endogene Erkrankungen wirken vorhandene Noxen als Karzinogene, Mutagene oder Onkogene am Mundschleimhautepithel. Die Entstehung ganzer Noxenstraßen ist nach GITT et al. (1989) auch hinsichtlich der Entstehung von Mehrfachkarzinomen von Bedeutung. Nach ECKARDT und SCHMELZEISEN (1992) ist die Inzidenz der Zweitkarzinome im Kopf-Hals-Bereich mit 10% bis 35% aller Patienten mit PE-Ca heutzutage ein ernstzunehmendes onkologisches Problem.

Bei der Betrachtung epidemiologischer Kriterien sind nach GRIMM (1990) äußere und innere Faktoren der Geschwulstentstehung zu unterscheiden, wobei bei den Karzinomen nachweislich äußere Einflussfaktoren überwiegen. Die spezielle berufliche und die ständige allgemeine Exposition der Gesamtbevölkerung durch Luft, Wasser und Nahrung sind bei den äußeren Faktoren von wesentlicher Bedeutung. Zu den häufigsten inneren Einflussfaktoren zählen u.a. als erbbedingtes Merkmal das Geschlecht und das Patientenalter. Nach ORDUNG et al. (1992) führt die physiologische Alterung zu Defekten bei Regenerations- und Kontrollvorgängen im Organismus, die so das Tumorstadium nicht mehr suffizient unterdrücken können. Bei dem zu verzeichnenden Anstieg des Patientenalters verlängert sich die Einwirkzeit exogener Noxen. Der Altersgipfel der Erkrankungshäufigkeit bei PE-Ca hat sich nach MORGENROTH et al. (1996) vom 6. bis 7. in das 5. bis 6. Lebensjahrzehnt verlagert. Des Weiteren ist ein zunehmendes Auftreten von Karzinomen bei jüngeren Patienten zu beobachten. Das Verhältnis zwischen Männern und Frauen beträgt nach PINDBORG (1982) 3,8 : 1 und bei FRIES et al. (1979) 3 : 1. Dabei ist ein Trend zur Angleichung der Erkrankungsraten bei Männern und Frauen zu verzeichnen. Nach FRÖHLICH et al. (1992) besteht dennoch eine auffällige Prävalenz der Erkrankung für das männliche Geschlecht. Bei der Betrachtung der einzelnen Lokalisationen innerhalb der Mundhöhle geben MORGENROTH et al. (1996) an, dass die Tumoren am häufigsten im



Mundboden lokalisiert sind, gefolgt von Unterkiefer (UK) – Alveolarfortsatz, weichem Gaumen, Pharynxwand und hartem Gaumen. Für die Entwicklung von zellschädigenden Substanzen sind Zunge, Mundboden und Oropharynx am stärksten exponiert.

### 2.1.2. Klinische Aspekte

Eine Vielzahl von PE-Ca entsteht nach BURKHARDT (1980), PINDBORG (1982) und WOHLGEMUTH (1990) auf der Basis häufig asymmetrischer Präkanzerosen, wobei zu den wesentlichsten die Leukoplakie, der Lichen ruber planus und die Melanosis circumscripta präblastomatoso gezählt werden. Nach RAABE und SCHUMANN (1980) stellt die Leukoplakia oris, im Endstadium als Leukoplakiekarzinom, mit einer Entartungsrate von 5%-8% die häufigste Präkanzerose dar. Ca 45% der Präkanzerosen sind an der Lippe, 25% am Planum buccale und 15% am Mundboden und UK-Alveolarfortsatz lokalisiert. Nach GUNDLACH (1992) gehen 3% der Leukoplakia simplex, 11% der Leukoplakia verrucosa und 38% der Leukoplakia erosiva mit hoher Wahrscheinlichkeit in ein PE-Ca über. WOHLGEMUTH (1990) weist darauf hin, dass sich bei den histologischen Untersuchungen frisch entdeckter Leukoplakien bereits zu 10% ein beginnendes oder ausgebildetes PE-Ca ergibt.

Nach GRIMM (1990) werden die Karzinome im Mund- und Kieferbereich makromorphologisch in exophytische Geschwülste mit blumenkohlartig aus der Schleimhaut herausragendem Wuchs und in endophytisch wachsende, infiltrierend in das Geschwulstbett eindringende Tumoren mit primärem Ulkus unterschieden. Im Tumorzentrum kommt es mit zunehmender Tumorgöße zu mangelnder Nährstoffzufuhr und damit häufig zum nekrotischen Gewebszerfall. MÜLLER et al. (1992) spezifizieren die PE-Ca der Mundhöhle zu 9,6% in exophytische, zu jeweils 20,2% in ulzero-exophytische und ulzeröse sowie zu 50% in ulzero-invasive Wuchsformen. Die exophytische Wachstumsform ist gekennzeichnet von einer meist intakten Tumoroberfläche mit geringer Infiltration und Metastasierungsneigung. Ulzeröse Wuchsformen zeigen einen oft ausgedehnten Schleimhautdefekt mit zentralem, sekundär infizierten Ulkus und tastbar derbem Randwall mit entzündlicher Umgebungsreaktion. Das bereits im Frühstadium tief infiltrierende und destruierende Wachstum führt zum Tumoreinbruch in alle benachbarten Gewebsstrukturen. Über das Gefäß- und Lymphsystem erfolgt die progrediente Tumorschleppung zunächst in regionäre LK Gruppen, später in entferntere Lymphstationen, Organe und Skeletteile. Nach MÜLLER et al. (1992) neigen die ulzerösen Formen zu einer Metastasierungsrate von fast 60%. Die Wuchsform ist somit Ausdruck des biologischen Charakters eines Karzinoms und Funktion der Tumorgöße.

Bei der klinischen Geschwulstdiagnostik sind genaueste anamnestische und palpatorische Untersuchungen mit Inspektion des örtlichen Tumorbefundes von großer Bedeutung. Palpatorisch werden primär Aussagen über die Geschwulstoberfläche, die Konsistenz und die Ausdehnung des Tumors getroffen und damit der Infiltrationsgrad eingeschätzt. Die palpatorische Kontrolle regionärer Lymphabflussgebiete ergänzt die Verdachtsdiagnose. Im Rahmen des klinischen Staging haben sich zusätzlich sonographische und computertomographische (CT) Untersuchungsmethoden für die Darstellung der komplexen anatomisch-topografischen Verhältnisse bezüglich der Tumorausbreitung und des Befalls der verschiedenen Lymphstationen – besonders bei fortgeschrittenen Tumorstadien – fest etabliert. Nach SPIESSL (1978, 1988) ist das Staging neben der TNM-Kurzformel zweitrangig. Er räumt dem TNM-System für die prätherapeutische Diagnosestellung, die Behandlungsplanung, die organ- und strukturerhaltende Tumorentfernung, für die Ergebnisbewertung und für den Informationsaustausch eine normierende Funktion ein.

Die mikroskopische Gewebsanalyse zeigt nach GRIMM (1990) aktiv in Gewebsspalten und Lymphbahnen des gesunden Plattenepithels vordringende Tumorausläufer, deren ursprüngliche gewebliche Zellstruktur in verschiedenen Entwicklungsstufen weitgehend verloren geht. Die überstürzte Zellteilung der Tumorzellen führt irreversibel zu deren verschiedenartigen Ausdifferenzierung und damit zu einem wechselnden Differenzierungsgrad. Der unterschiedliche Differenzierungsgrad ist von wesentlicher therapeutischer Konsequenz und von prognostischer Bedeutung. Nach REICHERT et al. (1992, 1994) und HYCKEL et al. (1985, 1992a, 1992b) hat sich beim PE-Ca der Mundhöhle neben dem Staging das Grading als prognoserelevant erwiesen. Bei der histologischen Aufarbeitung von Karzinompräparaten erfolgt daher die Betrachtung der Parameter Verhornungsgrad, Atypiegrad und Mitosezahl in den am schlechtesten differenzierten und höchst invasiven Arealen des Tumors (Bryne et al. 1989). REICHERT et al. (1992, 1994) dehnen die Untersuchungen für eine möglichst genaue Prognoseeinschätzung mit Hilfe histologischer Parameter auf Untersuchungen im Bereich der Tumorfront mit Betrachtung des Invasionsmusters der infiltrierenden Tumorzapfen aus. Im Bezug auf neueste wissenschaftliche Erkenntnisse im Rahmen der Tumor-Wirts-Beziehung ergeben sich weitere mikroskopische Hinweise aus Art und Grad immunologischer Abwehrreaktion der betroffenen Gewebe in Tumorgrenzzonen und korrespondierenden LK.

Kriterien wie Kapseldurchbruch des Tumors, seine venöse, neurale, vor allem aber lymphangische Karzinose und der LK-Befall sind heute wesentliche therapie- und prognoserelevante Tumorkriterien.

### 2.1.3. Therapie und Prognose

Das klassische Therapiekonzept der Tumorradikaloperation wurde 1982 vom Deutsch-Österreich-Schweizerischer Arbeitskreis (DÖSAK) für Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich überarbeitet publiziert. Nach PLATZ (1986) schuf der DÖSAK auf der Grundlage der Arbeit von KOCH (1978) eine Spezifizierung von Definitionen zum radikalchirurgischen Vorgehen bei PE-Ca der Mundhöhle mit detailliertem Vorgehen auch im Bereich der regionären Lymphabflussgebiete des Halses. Dazu erschienen u.a. Veröffentlichungen von BIER (1982, 1992) und Therapiestudien von MOHR (1992, 1994) im Auftrag des DÖSAK. Darauf aufbauend, konnten bis zum heutigen Zeitpunkt große Fortschritte auf dem Gebiet der klinischen Onkologie des MKG-Bereiches bezüglich der chirurgischen Radikaloperation, der Radiotherapie und der Chemotherapie erzielt werden. Nach PLATZ (1986) ist dabei trotz weltweiter, intensiver Grundlagenforschung eine generelle Lösung des Krebsproblems nicht gelungen. HÖLTJE et al. (1992) schätzen ein, dass sich im Vergleich mit vielen anderen Tumorerkrankungen die Heilungsaussichten für orale PE-Ca im Rückblick über Jahrzehnte nicht nennenswert verbessert haben. Auch PLATZ et al. (1986) und HOWALDT et al. (1990) weisen im Rahmen der Ergebnisse der „Retrospektiven und der Prospektiven DÖSAK -Studie“ darauf hin, dass auch hinsichtlich der Überlebensraten der Patienten mit Karzinomen im Mund- und Kieferbereich in den letzten 20 Jahren wenig Verbesserung eingetreten ist. Die im Vordergrund stehende Lebensqualität der betroffenen Patienten konnte unter Beibehaltung der Lebenszeitverlängerung nachweislich erhöht werden. Nach SCHUMANN et al. (1992) ergibt sich aus der Zunahme der Erkenntnisse über die Ausbreitungswege der Tumoren und die Immunreaktivität der Patienten die Möglichkeit einer streng stadien- und histologiebezogenen, onkochirurgischen Radikalität auch im Bereich der Lymphabflussgebiete. Voraussetzung für diese geforderte Radikalität ist nach MÜHLING et al. (1992) die Einführung der Mikrochirurgie Mitte der 70-er Jahre in das Fachgebiet der MKG-Chirurgie. Variable Spenderareale machen nach SCHMELZEISEN et al. (1992) den gezielten Einsatz mikrochirurgischer Rekonstruktionsverfahren auch bei ausgedehnten Tumorddefekten mit weitgehender Wiederherstellung von Form und Funktion möglich. Das Hauptproblem der Behandlung ist trotz angestrebter En-Block-Resektion des Primärtumors mit ableitenden Lymphbahnen die hohe Rate lokaler Rezidive, die von HOWALDT et al. (1989, 1990) im Rahmen systemischer Erhebung des DÖSAK je nach Größe des Primärtumors mit 20 – 60 % angegeben wird.

Trotz des für die Tumorerkennung günstigen Entstehungsortes ist die Prognose oraler PE-Ca nach HOWALDT et al. (1989, 1990) als nur mäßig zu beurteilen. Erhebungen von FRIES (1978a, 1978b) im DÖSAK-Krankengut und Untersuchungen von PAPE (1981) lassen erkennen, dass durchschnittlich 70% aller Patienten mit Tumoren über 3cm Oberflächenausdehnung bei relativer Schmerz- und

Symptomlosigkeit zur Primärdiagnostik kommen. Bezugnehmend auf die Früherkennungsnotwendigkeit maligner Veränderungen im Bereich der Mundhöhle handelt es sich nach MORGENROTH (1968) bei diesen Patienten bereits um Spätfälle. Zum Zeitpunkt der Erstaufnahme des Patienten ist nach PLATZ et al. (1982, 1986) die Erfassung wesentlicher Tumor- und Patientenmerkmale notwendig. Die Prognose des betroffenen Patienten ist dann bei Vorliegen einer bestimmten klinischen Faktorenkombination unter verschiedenen therapeutischen Voraussetzungen zu beurteilen.

Eine objektive Bewertung des Erfolges therapeutischer Maßnahmen bzw. für die Beurteilung der Relevanz prognostischer Faktoren stellen nach HUDEC et al. (1979, 1980) die Überlebenszeiten der Tumorpatienten dar. Die Betrachtung der ÜR im Verlauf der Tumorerkrankung ist dabei das vergleichbarste Kriterium. Die 5-Jahres-ÜR ist die am häufigsten zitierte ÜR. Sie wurde von zahlreichen Autoren für Lippenkarzinompatienten, für Patienten mit Mundhöhlen- und Oropharynxkarzinomen und für kombinierte Kollektive untersucht. Lippenkarzinome stellen bei der Beachtung von PE-Ca der Mundhöhle eine einständige Gruppe dar. Sie wurden bisher histologisch malignen Hautveränderungen zugeordnet. TISCHENDORF et al. (1985) geben für Lippenkarzinome eine 5-J-ÜR von 70% (1948-1980) an. Bei GITT et al. (1989) sind es 82,3 % (1966-1980) und bei REICH et al. (1992) 88,7 % (1979-1989). Im Kollektiv der Mundhöhlenkarzinome unterliegt die 5-J-ÜR von 38,3 % nach SCHUMANN et al. (1992) (1968-1988) über 40% bei TISCHENDORF et al. (1985) (1948-1980) und 48,7% bei HÖLTJE et al. (1992) (1961-1984) bis hin zu 56% bei WEBER et al. (1992) (1981-1990) einer enorm großen Schwankungsbreite. Bei der Betrachtung der Gesamtheit aller Karzinome der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx geben PLATZ et al. (1988) eine 5-Jahres-ÜR von 40% im Rahmen der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ (1952-1972) und 43,5% für die „Prospektive Studie“ (1977-1982) an. Bei TISCHENDORF et al. (1985) (1948-1980) liegt die 5-J-ÜR bei 55% und bei REICH et al. (1992) bei 64 % (1979-1989). Die Frage der Vergleichbarkeit von Ergebnissen der Studien untereinander lässt sich nach HOWALDT et al. (1990) anhand der Literatur nur schwer beantworten.

## **2.2. Das TNM-System als Klassifikationsgrundlage**

Nachdem man bis zur Jahrhundertwende zunächst Früh- und Spätfälle diagnostizierte, gab DENOIX (1944) mit dem TNM-System die erste Tumorklassifikation an. Nach FRIES (1980) und SPIESSL (1966, 1978) basiert sie auf dem empirischen Tatbestand, dass die anatomische Ausbreitung der Krebskrankheit generell erfasst und beschrieben werden kann. Es erfolgt die Fragestellung der

Ausdehnung einer Geschwulst anhand von verschiedenen, genau festgelegten Qualitätsmerkmalen. Die Prinzipien des TNM wurden 1944 von der Union Internationale contre le Cancer (UICC) und 1959 vom American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting (AJC) übernommen und von der UICC u.a. 1978 und 1980 modifiziert. Nach GRIMM (1990) ist das Verdienst von SPIESSL und FRIES, sich besonders mit der ins einzelne gehenden Übernahme des TNM-Systems für das Fach Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde beschäftigt und brauchbare Normen geschaffen zu haben. Nach SPIESSL (1978, 1988) ist das TNM-System für die klinisch-therapeutische Forschung von ausschlaggebender Genauigkeit und Objektivität. Er beschreibt die TNM-Kurzformel des prätherapeutischen Befundes als eine morphologische und anatomische Beurteilung des Karzinoms als chirurgische Erkrankung. Sie ist daher für das chirurgische Denken und Handeln eine sinnvolle klinische Befundbeschreibung und eine Aufgliederung der Tumorerkrankung als Ganzes in die makroskopischen Substrateile:

- Primärtumor T,
- regionäre Lymphknoten N und
- Fernmetastasen M.

Die TNM-Kategorien werden mit Hilfe visueller, palpatorischer und röntgenologischer Untersuchungsmethoden getrennt voneinander bestimmt und in der Tumorformel zusammengefasst. Die aus der Einführung von Computer-Tomographie (CT), Magnetresonanz-Tomographie (MRT) und endoskopischer Sonographie resultierenden diagnostischen Fortschritte machen bereits prätherapeutisch die topographische und metrische Bestimmung der Ausdehnung des Primärtumors und vorhandener Metastasen möglich. Die einzelnen Diagnoseverfahren und deren kombinierte Anwendung besitzen nach WANGERIN et al. (1990) eine unterschiedliche Aussagekraft und sind von der Interpretation und der Erfahrung des Diagnostikers abhängig.

Innerhalb der Kommission für klinische Onkologie der UICC wurden nach dem TNM-System Definitionen für spezifische Krebslokalisationen aufgestellt. Die Karzinome der Mundhöhle und der Lippen wurden 1962 klassifiziert, nach FRIES (1980) 1970 im deutschen TNM-Ausschuss herausgegeben und von SPIESSL in die Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde übernommen. Der DÖSAK und die Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren (ADT) erarbeiteten 1987 nach HOWALDT et al. (1992) eine einheitlich standardisierte, organspezifische Tumordokumentation. Daraus resultierend, entstand 1990 das zentrale Tumorregister des DÖSAK.

Die klinische Erprobung und Vereinheitlichung der entwickelten Tumordokumentationsbögen führte 1987 zur Neuauflage des TNM-Systems. SPIESSL (1988) wies bei der Bekanntgabe darauf hin, dass

neben der klinischen TNM-Formel die pathologische pTNM-Klassifikation so unerlässlich ist wie die histopathologische Verifizierung und das histologische Grading des Tumors. Wesentliches Kriterium ist dabei der Ausschluss möglicher, individuell abweichender Interpretationen.

### **2.3. Deutsch - Österreichisch - Schweizerischer - Arbeitskreis ( DÖSAK )**

1966 begannen SCHEUNEMANN, FRIES und SPIESSL die – 1969 erfolgte – Gründung des Deutsch-Österreichisch-Schweizerischen-Arbeitskreises (DÖSAK) für Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich vorzubereiten. Mit dieser interklinischen Arbeitsgruppe wurde es nach FRIES (1980, 1992) möglich, ein ausreichend großes Krankengut zu sammeln und gemeinsam zu bearbeiten. Erklärte Ziele waren die Reaktivierung der klinisch-therapeutischen Krebsforschung mit gemeinsamer Tumordokumentation, die Organisation der elektronischen Datenverarbeitung und biostatistischer Therapiestudien sowie die Erarbeitung biostatistischer Modelle.

Die Notwendigkeit der exakten Kenntnis der Prognose einer Tumorkrankheit und der sie beeinflussenden Faktoren führten nach PLATZ et al. (1992b) 1982 in der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ zu umfangreichen Analysen der gängigen TNM-Klassifizierungen von PE-Ca der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx. Das TNM-System zeigte sich nach PLATZ et al. (1983) als nicht oder nur sehr bedingt in der Lage, dem komplexen Wesen der Krebskrankheit gerecht zu werden. Die „Retrospektive DÖSAK-Studie“ war nach PLATZ et al. (1982) die erste umfassende Beobachtungsstudie über Mundhöhlenkarzinome, einschließlich solcher der Lippen und des Oropharynx; mit dem Ziel der Schaffung einer prognostischen Klassifizierung für Karzinome der Mundhöhle und der Analyse prognostisch relevanter Faktoren der Tumorkrankheit.

Mit der Einführung in die „Prospektive Studie“ 1988 blieb daher nach PLATZ et al. (1988) das Hauptziel des DÖSAK, Probleme der prognostischen Klassifizierung von Mundhöhlenkarzinomen an einem ausreichend großen und genau dokumentierten Krankengut zu bearbeiten. Um dem gerecht zu werden, wurde von PLATZ et al. (1983) als Instrument einer möglichst objektiven und verlässlichen Prognosestellung 1983 der Therapieabhängige Prognoseindex (TPI) entwickelt. Der TPI basiert auf dem Datenmaterial der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ und wurde von PLATZ et al. (1983, 1988, 1989) zur individuellen und kollektiven Prognosestellung anstelle des TNM empfohlen. Dem Kliniker ist es auf diese Weise möglich, die Prognose von Patienten vor deren Therapie bei Zugrundelegung ihrer individuellen klinischen Charakteristik unter verschiedenen therapeutischen Bedingungen zu bestimmen. Von 18 analysierten Faktoren zum Zeitpunkt der Erstaufnahme des Patienten erwiesen sich nach PLATZ et al. (1982) nur fünf als prognostisch relevant:

- die Tumorgroße
- die Tumordinfiltration
- regionäre Lymphknoten
- Fernmetastasen und
- das Alter des Patienten.

In einer klinischen Validierung des TPI anhand des Datenmaterials der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ über PE-Ca der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx wurde dem TPI in seinen wesentlichen Teilen eine hohe Wertigkeit zuerkannt. Nach PLATZ et al. (1989) zeigte sich aber auch die Notwendigkeit einer Verfeinerung des TPI durch Berücksichtigung zusätzlicher prognostischer Faktoren.

Endprodukt der erfolgten Weiterentwicklung der TPI im Rahmen der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ ist die Computerunterstützte Individuelle Prognosestellung (CIP). CIP wurde 1990 vom DÖSAK als menüorientiertes Computer-Programm mit optischer Präsentation und klinischer Verwertbarkeit eines Vergleichskrankenguts aus dem Datenmaterial der „Retrospektiven DÖSAK-Studie“ entwickelt. CIP bietet nach PLATZ et al. (1992a, 1992b) – trotz einer zahlenmäßigen Erhöhung der prognostisch relevanten Faktoren – gegenüber dem TPI eine deutliche Vereinfachung in der Handhabung und vor allem eine wesentliche Vermehrung der bisherigen Anwendungsmöglichkeiten.

## 2.4. 5-Aminolävulinsäure-induziertes Protoporphyrin IX

5-ALA ist selbst kein Fluoreszenzfarbstoff. Es handelt sich um eine Substanz mit der Wirkstoffbezeichnung 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (Tabelle 1). Die Summenformel lautet  $C_5H_{10}ClNO_3$ , das Molekulargewicht beträgt 167,59 g/Mol. Die Substanz ist ein weißes bis bräunlich-weißes, wasserlösliches Pulver mit einem Schmelzpunkt von ca. 152 °C. Das Grundgerüst von 5-ALA-induziertem Protoporphyrin IX besteht aus vier Pyrrolmolekülen. Diese sind über Methinbrücken zu einem Ring angeordnet. Die Gruppe der Porphyrine, zu der auch das Protoporphyrin IX gehört, haben ausgeprägte Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften. Nach Lösen des lyophilisierten Pulvers entsteht eine klare Flüssigkeit mit Absorptionsbanden im ultravioletten Bereich des Spektrums. Diese liegen für die Absorption im sichtbaren Bereich bei 400 nm sowie zwischen 450 nm bis 700 nm. Entscheidend für die Absorption ist die Art der Seitenkette, die für die Wellenlänge und die Intensität des Absorptionsmaximums verantwortlich ist. Das größte Maximum der Fluoreszenzemission liegt bei 630 nm mit einem weiteren kleinen Maximum bei 700 nm.

**Tabelle 1: Substanzbeschreibung von 5-Aminolävulinsäure (5-ALA)**

- Bezeichnung: 5-Aminolävulinsäure-Hydrochlorid (unsteril)
- Chemischer Name: 5-Amino-Oxo-Pentansäure-Hydrochlorid
- Zubereitungsform: Hilfsstofffreier pharmazeutischer Rohstoff
- Konzentration: >99 %
- Lagerung: Im Braunglasgefäß vor Licht geschützt, dicht verschlossen

Bei 408 nm befindet sich das Absorptionsmaximum vom nicht wasserlöslichen PpIX, das durch einen Tetrapyrrolring mit einem  $\pi$ -Elektronensystem gebildet und nach seinem Entdecker SORET 1883 als Soret-Bande bezeichnet wird. Eine ca. 10- bis 15-fach niedrigere Absorption im Vergleich zur Soret-Bande ist nach GOUTERMANN (1961, 1978) bei den Q-Banden (504 nm, 538 nm, 574 nm und 628 nm) nachzuweisen.

### 2.4.1. Applikationsformen und Dosierungen von 5-Aminolävulinsäure

Im Gegensatz zu vielen anderen Photosensibilisatoren lässt sich 5-ALA zur endogenen Synthese



von PpIX sowohl systemisch per os, als auch topisch einzusetzen. In der Tabelle 2 sind die Applikationsformen mit der jeweils verwendeten Dosierung zusammengefasst.

**Tabelle 2: Zusammenstellung der Applikationsformen und Dosierungen von 5-ALA**

Applikationsformen	Dosierung
Orale	40 mg/kg KG
Instillation	1,5 g ( 3 % )
Inhalation	500 mg ( 10 % )
topische (Salbengrundlage)	200 mg ( 10 % )
topische (Spülung)	50 mg ( 0,4 % )

#### • **Orale Gabe**

Entsprechend dem Körpergewicht der Patienten wird 40 mg/kg KG 5-ALA in 200 ml Mineralwasser gelöst und als Bolus peroral verabreicht. Der pH-Wert der Trinklösung lag bei 3. Aufgrund der zu erwartenden Hautsensibilisierung wird den Patienten empfohlen, sich für 48 h nach Applikation in verdunkelten Räumen aufzuhalten und weitgehend wie möglich vor Kunstlicht zu schützen.

#### • **Instillation**

1,5 g 5-ALA wird 2-3 Stunden vor der geplanten Zytoskopie in 50 ml 1 M NaHCO<sub>3</sub> gelöst und die pH-neutrale Lösung nach KRIEGMAIR et al. (1996) über ein Einmalkatheter intravesikal instilliert. Die Expositionszeit liegt zwischen 10 und 400 min (Mittelwert 150 min, Stdabw. 80).

#### • **Inhalation**

500 mg 5-ALA gelöst in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung und versetzt mit 5 gtt Salbutamol-Inhalationslösung wird mittels „Pari Inhalierboy“ (Pari, Starnberg, Deutschland) vernebelt und für eine Zeitspanne von 30 bis 40 min laut BAUMGARTNER et al. (1996) und HUBER et al. (1995) inhaliert. Die Bronchoskopie erfolgt weitere 3 h nach Inhalation.

#### • **Salbengrundlage**

200 mg 5-ALA wird mit 1,8 g einer wirkstofffreien Wasser-in-Öl-Emulsion (Hermal, Hamburg, Deutschland) vermischt. Für die Einwirkzeit von etwa 6 h nach topischer Applikation der Salbengrundlage wird der Hautbefund mit einem lichtundurchlässigen Okklusionsverband abgedeckt. Erst wenige Minuten vor der fluoreszenzdiagnostischen Untersuchung wird der Verband entfernt und der Hautbefund von Salbenresten gereinigt.

- **Spüllösung**

In Versuchen zur Ermittlung der 5-ALA-Dosis und Expositionszeit konnten die besten Ergebnisse laut ZENK et al. (1999) bei Anwendung einer 0,4 %igen 5-ALA-Lösung in Verbindung mit einer 20-minütigen Spülzeit erzielt werden.

Entsprechend wurden zur topischen Applikation 50 mg 5-ALA-Lösung frisch zubereitet. Die Patienten spülten ihre Mundhöhle anschließend unter Aufsicht für 20 min mit der 5-ALA-Lösung.

### 2.4.2. Porphyrin- und Häm-Biosynthese

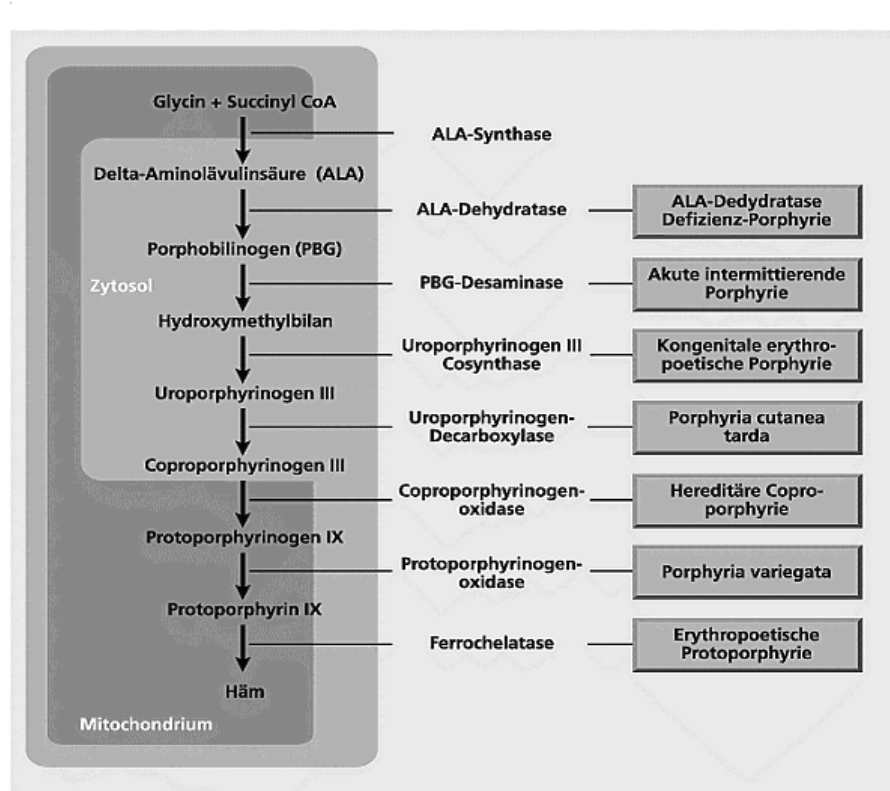
5-ALA ist das Ausgangsprodukt der intrazellulären Häm-Biosynthese. In dieser Synthesekette werden Vorstufen verschiedener Porphyrine und PpIX gebildet. Dies ist das entscheidende Fluorochrom, das während der fluoreszenzdiagnostischen Untersuchung nachgewiesen wird. Ohne spezifische Stimulation durch exogene Applikation von 5-ALA werden nennenswerte Mengen von Porphyrin im Körpergewebe sowie in Körperflüssigkeiten nur bei Patienten mit Porphyrie beobachtet.

Der  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplex von PpIX ist im menschlichen Organismus an verschiedene Proteine gebunden und formt Schlüsselmoleküle wie z.B. Hämoglobin, Myoglobin, Zytochrome, Katalase, Peroxidase und Tryptophan-Pyrolase. Fast alle Zelltypen des menschlichen Körpers mit Ausnahme von ausgereiften Erythrozyten besitzen die Voraussetzung für die Synthese von Häm.

Der erste Schritt in der Häm-Biosynthese (Abbildung 1) ist die Bildung von Aminolävulinsäure. In Säugetierzellen und photosynthetisch aktiven Bakterien wird Aminolävulinsäure aus Glycin und Succinyl-CoA durch das Enzym 5-ALA-Synthase (ALAS) gebildet. Dieses Enzym ist in der Matrix der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert. Das nächste Enzym ist die im Zytosol lokalisierte 5-ALA-Dehydrogenase, die unter Kondensation von zwei Molekülen 5-ALA und Abspaltung von zwei Wassermolekülen die Bildung von Porphobilinogen induziert. Durch den gemeinsamen Schritt von Porphobilinogen-Desaminase (PBGD) und Uroporphyrinogen III-Cosynthetase kondensieren vier Moleküle Porphobilinogen und bilden den Tetrapyrrolring zur Synthese von Uroporphyrinogen III. Im nächsten Schritt wird durch die Uroporphyrinogen-Decarboxylase Coproporphyrinogen unter Abspaltung von vier  $\text{CO}_2$ -Molekülen synthetisiert. Coproporphyrinogen III wird durch die Coproporphyrinogen-Oxidase, die ebenso auf der inneren mitochondrialen Membran lokalisiert ist, in Coproporphyrinogen IX umgewandelt. Der abschließende Schritt in der Synthese von PpIX ist die Oxidation des Tetrapyrrolrings durch Protoporphyrinogen-Oxidase mit Entfernung von sechs Wasserstoffatomen von Protoporphyrinogen IX. Dieses Enzym ist ebenso auf der inneren mitochondrialen Membran lokalisiert. Es ist ein sauerstoffabhängiges Enzym mit einer hohen Substratspezifität. Protoporphyrinogen IX kann spontan zu PpIX oxidieren. In die Tetrapyrrol-Struktur kann nun Eisen durch das Enzym Ferrochelatase eingebaut werden. Die Ferrochelatase ist ebenso auf der inneren mitochondrialen Membran lokalisiert.

Alle Stoffwechselschritte der Häm-Biosynthese sind irreversibel und werden teilweise durch Substrat-Verfügbarkeit und Feedback-Inhibition der ALAS reguliert. Von allen Enzymen des Häm-Biosynthesestoffwechsel hat die ALAS die geringste Aktivität, gefolgt von Porphobilinogen-Desaminase, die anderen Enzyme weisen deutlich höhere Aktivitäten auf. In menschlichen Erythrozyten ist die Aktivität der Ferrochelatase ebenfalls sehr gering. Sie ist nur etwa dreifach höher als die der ALAS. Ein wesentlicher Regulierungsschritt in der Häm-Biosynthese ist verbunden mit der ALAS-Aktivität. Häm kann das ALAS-Enzym direkt inhibieren sowie Transkription, Translation und

den Transport des Proteins in die Mitochondrien hemmen. Der letzte Schritt bei der Bildung von Häm ist der Einbau von Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) in PpIX, in den Mitochondrien unter der Wirkung des Enzyms Ferrochelatase. Durch Zugabe von exogener 5-ALA kann PpIX aufgrund einer limitierten Kapazität (im Tumorgewebe) von Ferrochelatase akkumulieren.



**Abbildung 1: Häm-Biosynthese mit 5-ALA als Ausgangsprodukt**

Die Synthese erfolgt teilweise in den Mitochondrien und teilweise im Zytosol. Porphobilinogen, Uroporphyrinogen und Coproporphyrinogen können enzymatisch weiter zu photochemisch aktiven Substanzen umgewandelt werden.

PBGD ist ein weiteres aktives Enzym in der Häm-Biosynthese (katalysiert die Bildung von Uroporphyrinogen aus Porphobilinogen). Die Aktivität dieses Enzyms ist nach LEIBOVICI et al. (1988), SCHÖNFELD et al. (1988) und KONDO et al. (1993) in einigen Tumoren höher, während die Aktivität der Ferrochelatase nach SCHÖNFELD et al. (1988), KONDO et al. (1993), DAILEY und SMITH (1984), SMITH (1987), EL-SHARABASY et al. (1992) und VAN HILLEGERSBERG et al. (1992) niedriger ist, so dass sich PpIX selektiv in bestimmten Tumoren anreichert.

### 2.4.3 Toxizität

Bei Tumorpatienten bzw. gesunden Probanden kommt es nach Einzelgabe oder wiederholter topischer oder systemischer Applikation von exogenem 5-ALA zu keinerlei Porphyriesymptomen oder neurologischen Ausfällen. Beschrieben wurden nach systemischer Applikation neben einer vorübergehenden Hautsensibilisierung und Anstieg der Leberwerte in Einzelfällen Übelkeit und Erbrechen (Rick et al. 1997, Webber et al. 1997a, Herman et al. 1998, Vaidyanathan et al. 2000). Zur Abklärung einer 5-ALA-induzierten Toxizität liegen in vitro und tierexperimentelle Untersuchungen sowie Beobachtungen am Menschen vor (Tabellen 3a-c).

**Tabelle 3a: In vitro Untersuchungen zur Toxizität von 5-Aminolävulinsäure**

<b>Autor</b>	<b>Methode</b>	<b>5-ALA-Dosis</b>	<b>Ergebnisse</b>
RIOPELLE und KENNEDY et al. (1982)	Neuronenkultur aus Hühnchenembryonen	1,5 mM	<b>Neurotoxizität :</b> Nicht nachweisbar
ONUKEI et al. (1994)	Plasmid-DANN	0,01-3 mM	<b>Teratogenität:</b> Induktion von DANN-Einzelstrangbrüchen; Hemmung durch Katalase, Superoxid-Dismutase, Chelatbildner oder Mannitol

**Tabelle 3b: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Toxizität von 5-ALA**

ARNOLD et al. (1975)	Albino-Mäuse	250, 500 oder 1000 mg/kg KG oral oder intraperitoneal	<b>Teratogenität:</b> Kein Nachweis von genetischen Schäden, keine verminderte Fertilität
KENNEDY et al. (1976)	Albino-Mäuse	10, 50, 100 mg/kg p.o. 3x/Woche für 13 aufeinanderfolgende Wochen	<b>Subkutane Toxizität:</b> Kein Tier ist an der Behandlung verstorben; Paarungsverhalten, Fertilität, Histologie, Wachstum sowie hämatologische und klinisch chemische Parameter waren normal
PIERACH u. EDWARDS (1978)	Sprague-Dawley Ratten	2-10 µmol/kg KG intracerebral	<b>Krampfneigung:</b> Mit zunehmender Dosis vermehrt Krampfanfälle, Katatonien und Ataxien. Bei niedrigster Dosis kein Unterschied zur Kontrollgruppe. Kein Todesfall bei niedrigster Konzentration. Bei 10 µmol/kg KG verstarben alle Tiere.
CUTLER et al. (1979)	Mäuse	0,8 bzw. 1,6 mmol/kg KG intraperitoneal	<b>Sozialverhalten:</b> Sozialverhalten normal nach 0,8 mmol/kg KG  Phasen der Immobilität und Lethargie. Reversibel ( nach 4 h )
SIMA et al. (1981)	Albino-Mäuse	1000 mg/kg KG intraperitoneal	<b>Neurotoxizität:</b> Am 2. Tag nach 5-ALA-Gabe Nervenleitgeschwindigkeit erniedrigt.  <b>Photosensitivität:</b> Bereits 1 h nach Applikation, rückläufig nach 2 Tagen.
EDWARDS et al. (1984)	Mäuse	100, 250 oder 500 mg/kg KG intraperitoneal	<b>Neurotoxizität:</b> Nicht nachweisbar.
DIVARIS et al. (1990)	Mäuse	250 mg/kg KG intraperitoneal	<b>Phototoxizität:</b> Anreicherung von PpIX in Talgdrüsen.
PENG et al. (1992)	Mäuse	250 mg/kg KG intraperitoneal	<b>Phototoxizität:</b> 2 h nach Applikation Anreicherung der PpIX-Fluoreszenz in Tumor, Leber und Haut.  Nach Beleuchtung mit $\lambda=632$ nm Schädigung der Mitochondrien in Tumor- und Endothelzellen
WEHNER und MARLEY (1986)	Mäuse	250 mg/kg KG intraperitoneal  75 µg i.c.	<b>Neurotoxizität:</b> Antikonvulsive Aktivität von 5-ALA, Agonist des Neurotransmitters GABA
REGUAL et al. (1994)	Goldhamster	200 mg/kg intravenös  400mg/kg KG per os	<b>Phototoxizität:</b> Dermale Nekrose nach Beleuchtung mit $\lambda=630$ nm

**Tabelle 3c: Untersuchungen zur Toxizität von 5-ALA am Menschen**

Autor	Methode	5-ALA-Dosis	Ergebnisse
GORCHEIN und WEBBER (1987)	5 Patienten	Keine 5-ALA-Gabe	Normaler 5-ALA-Plasmaspiegel im Mittel bei 92 nmol/l  5-ALA-Spiegel im Speichel nur 10-30% des Plasmaspiegels  In Erythrozyten kein messbarer 5-ALA-Spiegel
KENNEDY et al. (1990)	Ohne Angaben	20% 5-ALA in einer Öl/Wasser-Emulsion topischer Applikation für 3-6 h	Keine Nebenwirkungen
WOLF et al. (1993)	13 Patienten	20% 5-ALA in einer Öl/Wasser-Emulsion topischer Applikation für 4-8 h	Keine Nebenwirkungen
LOH et al. (1993)	3 Patienten	30 bzw. 60 mg/kg KG per os	Keine Nebenwirkungen, passagerer Anstieg des Serumbilirubins
KRIEGMAIR et al. (1996)	104 Patienten	1,5 g intravesical	Keine Nebenwirkungen, Keine Phototoxizität

Bei Patienten mit dem klinischen Bild einer Porphyrie, die erstmals von GÜNTHER (1911) benannt wurde, liegt ein angeborenes Enzymmangelsyndrom der Enzyme der Häm-Biosynthese vor. Abhängig vom jeweiligen Enzymdefekt kommt es bei diesen Patienten zur Produktion und stark erhöhten Ausscheidung von Zwischenprodukten der Häm-Biosynthese bzw. zur Anreicherung dieser Metabolite im Gewebe (Kappas et al. 1995, Rimington 1985, Bottomley, Müller-Eberhard 1988, Del C. Battle 1993).

Auslösende exogene Faktoren für Anfälle einer akut intermittierenden Porphyrie können Medikamente, Alkohol oder Infektionen sein. Klinisch können eine autonome Neuropathie, abdominale Koliken (akutes Abdomen), Übelkeit, Erbrechen oder Obstipation, Tachykardie und labiler Hochdruck auftreten. Motorische Lähmungen wie z.B. der Atemmuskulatur können lebensbedrohlich werden. Neben den neuroviszeralen Beschwerden treten neuropsychiatrische Symptome wie Krampfanfälle, Koma, Angst, depressive Verstimmungen, Halluzinationen, Lähmungen oder Areflexien auf (Gorchein 1997, Gordon 1999). Obwohl die abdominellen Beschwerden die Symptomatik dominieren, kann jeder Teil des Nervensystems betroffen sein. Die neurologischen Symptome sind reversibel. Alle Formen der Porphyrie gehen mit einer Photosensibilisierung der Haut einher. Die Vielfalt der Symptome hat dazu geführt, dass die Porphyrie als eine interdisziplinäre Erkrankung gilt.

Eine akute intermittierende Porphyrie wird kausal durch Gabe von Glukose behandelt, das die 5-ALA-Synthetase hemmt (sog. Glukose-Effekt). Spricht der Patient nicht ausreichend auf Glukose an, so ist die Gabe von Häm-Arginat (Normosang®) angezeigt (Thadani et al. 2000). Durch die Zufuhr von Häm wird das erste Enzym der Häm-Biosynthese und damit die Bildung von Porphobilinogen

gehemmt. Zusätzlich werden die jeweiligen klinischen Symptome individuell behandelt; so werden z.B. Schmerzen mit Pethidin, schweres Erbrechen mit Ondansetron, Tachykardie, Rhythmusstörungen und hypertone Krisen mit Propranolol therapiert (Sruogo et al. 1987, Schönfeld et al. 1991).

## **2.5 Sozioökonomische Bedeutung**

Bei dem erfolgreichen Einsatz der Fluoreszenzdiagnostik zur Prävention von Tumoren der Schleimhäute, das heißt in der Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, der Urologie, der Gynäkologie und in Kombination mit etablierten endoskopischen Verfahren in der Bronchoskopie, Gastroskopie usw., wird ein entscheidendes Hilfsmittel zur Früherkennung von bösartigen Tumoren geschaffen. Die Dimensionen der resultierenden Einsparungen im Bereich des Gesundheitswesens lassen sich durch Einsparungen in der folgenden Aufzählung deutlich machen.



### 3. Ziele der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Stellenwert der Fluoreszenzdiagnostik bei Karzinomen im Mundhöhlenbereich nach lokaler Applikation (Spülung) von 5-Aminolävulinsäure

- zur verbesserten Diagnostik von Primärtumoren
- zur Beurteilung der Sensitivität / Spezifität
- zur Diagnostik von Rezidiv- bzw. Residualtumoren im Rahmen der Tumornachsorge

zu ermitteln.

Im Rahmen der übergeordneten Zielsetzung wurden nachfolgende Fragestellungen bearbeitet:

- Digitale Bildspeicherung und Aufbau einer Patienten-Datenbank
- Definition und Markierung der Fluoreszenzbefunde
- Beurteilung des subjektiven Faktors Arzt
- Erarbeitung von Grundlagen der intelligenten Bildanalyse zur Unterstützung der Diagnosefindung
- Methodische Optimierung des Verfahrens zum Ausschluss falsch positiver Befunde.

## 4. Material und Methoden

### 4.1. Probanden / Patienten

Grundlage der Untersuchung bildet das Datenmaterial von insgesamt 379 Patienten mit Schleimhautveränderung der Mundhöhle. Diese Patienten wurden im Zeitraum vom Januar 1996 bis zum Juni 2002 ambulant bzw. stationär in der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesicht-/Plastische Chirurgie der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Direktor Prof. Dr. Dr. med. habil D. S. Schultze-Mosgau) aufgenommen.

Tabelle 4 gibt einen Überblick über den Anteil männlicher und weiblicher Patienten sowie Angaben über die Altersverteilung im Kliniks-Krankengut. Das Durchschnittsalter der weiblichen Patienten (64,1 Jahre) ist signifikant höher als das der männlichen (59,1 Jahre) mit  $p=0,001$  \*\*\*. Das Ergebnis wurde mit dem t-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Das Verhältnis erkrankter Männer zu Frauen betrug 1,7 : 1 .

**Tabelle 4 : Angaben zur Alters und Geschlechtsverteilung**

	Anzahl der Patienten (n)	Anteil am Gesamt-krankengut	Mittelwert Alter	Stdabw.	Altersspanne
<b>männlich</b>	240	63,30%	59,1	11,8	23-98
<b>weiblich</b>	139	36,7 %	64,1	14,6	21-92
<b>gesamt</b>	379	100 %	60,9	13,1	21-98

### 4.2. Datenerfassung

Zur Erfassung des für die Auswertung benötigten Datenmaterials der Patienten wurden folgende Kliniksdokumente retrospektiv aufgearbeitet:

- das Krankenblatt
- die Polikliniksakte
- die Patientendatei für ambulante Tumornachsorgeuntersuchungen
- der histologische Befund

Um die Tumordaten aller Patienten zu erfassen, wurde die Tumordokumentation in einer klinikeigenen Microsoft-Exceldatei erfasst. Die Datei kann jederzeit durch neu untersuchte Patienten ergänzt und für die weitere klinische Forschung im Rahmen klinischer Beobachtungs- und Therapiestudien genutzt werden.

### **4.3. Struktur des klinikeigenen Datenmaterials**

Das Datenmaterial der klinikeigenen Microsoft-Exceldatei enthält folgende Angaben (Tabelle 5):

- Patientenstammdaten (Name und Vorname des Patienten, Geburtstag, Alter und Geschlecht)
- Tumordaten (Diagnose, Tumor-Region, E-Nr. und histologischer Befund)
- Fluoreszenzbefund
- Übereinstimmung zwischen dem klinischen und histologischen Befund
- Angaben über gegenwärtigen Zustand

Die Primärlokalisation des Tumors wurde unter Zuhilfenahme der Krankenblätter retrospektiv erfasst und klassifiziert. Die digital angefertigten Bilder der Tumoren wurden dabei als Bilddaten der Datenbank zugefügt. Dabei waren die Lage der größten Tumormasse und das Zentrum der größten Tumorausdehnung wesentliche Zuordnungskriterien.

Zur Klassifikation der Befunde ist der fachgruppenbezogene Diagnosenkatalog auf der Grundlage von ICD-10-SGBV für die Fachgruppe Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie herangezogen worden.

Die Auswertung der histologischen Untersuchungen lag als schriftlicher Befund vor. Enthalten waren Differenzierung der Befunde, Klassifizierung des pTNM-Befundes und das histopathologische Grading.

Tabelle 5: Auszug aus der Patienten-Datenbank

AUF-DATUM	NAME VOR- NAME	GEBDAT	DIAGNOSE/TM- REGION	E.-Nr. / Histologie	ALTER	GESCHLECHT	ÜBEREIN- STIMMUNG	TOD
22.01.1996	P. H.	14.01.1936	C04.8 bösartige Neubildung des Mundbodens, mehrere Teilbereiche überlappend (links)	Basaloid-squamoses Ca	62	m	Ja	28.06.98
22.01.1996	S. G.	18.07.1929	C03.1 bösartige Neubildung des UK- Zahnfleisches (links)	5598/96 orales PE-Ca	72	m	Ja	***
20.05.1996	M. W.	13.06.1908	C04.0 bösartige Neubildung des Planum buccale (links)	13396/96 infiltrierend wachendes überwiegend nicht verh. PE-Ca	88	m	Ja	23.06.96
20.05.1996	N. J.	10.05.1952	C41.02 bösartige Neubildung des rechten Oberkiefers	1331/96 nicht verh. gering- bis mittelgradig diff. PE-Ca	49	m	Ja	***
03.06.1996	C. L.	10.07.1920	C09.1 bösartige Neubildung des Gaumenbogens (vorderer) (hinterer)	15054/96 invasives gering verh. mittelgradig diff. PE-Ca	81	w	Ja	***

#### 4.4. Präparation und Applikation von ALA

Aufgrund der pH-Sensibilität und zur Vermeidung von unerwünschten Effekten durch bisher noch unerkannte Abbauprodukte wurde nach NOVO et al. (1996) die 5-ALA-Lösung unmittelbar vor Gebrauch frisch zubereitet und lichtgeschützt aufbewahrt. Die 5-Aminolävulinsäure (ALA, Fa. MEDAC, Hamburg) wurde als 0,4%ige wässrige Lösung hergestellt. Der pH-Wert liegt dann bei 2,6.

Mindestens ein Tag vor der ALA-Applikation wird die Mundhöhle der Patienten professionell gereinigt und für den Zeitraum bis 24 h vor der Fluoreszenzmessung nach den Mahlzeiten mit Chlorhexidinlösung gespült. Der Patient darf bis einen Tag vor der Messung keine Prothese tragen. Nach ausführlicher mündlicher Aufklärung erfolgt die ALA-Spülung der Mundhöhle unter Aufsicht für die Dauer von 20 min. Im Anschluss ist eine Pause von drei Stunden für die Akkumulation des Sensitizers notwendig. Der Patient darf in diesem Intervall keine Nahrung zu sich nehmen und sollte sich vor direkter Sonnenlichteinstrahlung schützen.

#### 4.5. Visualisierung der Tumoren

Das nach der ALA-Spülung in der Mundhöhle des Patienten gebildete Protoporphyrin IX (PpIX) wird mit blau-violetter Licht (380-440 nm) zur Fluoreszenz angeregt. Diese kann im roten Spektralbereich (Maxima bei 635 und 705 nm) über einen Filter mit bloßem Auge wahrgenommen werden. Die spektrale Zusammensetzung des Anregungslichts ist so gewählt, dass das Intensitätsmaximum mit dem Absorptionsmaximum des PpIX (400 nm) zusammenfällt und Rotanteile der Strahlenquelle, die eine falsche Gewebefluoreszenz vortäuschen würden, unterdrückt werden (D-Light-System, Fa. Karl Storz, Tuttlingen, Deutschland).

Das System der makroskopischen Fluoreszenzanalyse besteht aus Anregungslichtquelle (D-Light/AF-System, Storz, Tuttlingen, Deutschland) und Kamera (Abbildung 2).

Mit Hilfe eines Lichtkabels oder Endoskops kann das Anregungslicht bequem an die zu untersuchenden Areale der Mundhöhle herangeführt werden. Der zur Beobachtung der roten Fluoreszenz dienende Filter schwächt das blau-violette Anregungslicht ab, sodass die rot fluoreszierenden Areale auf einem blauen bzw. blaugrünen Hintergrund deutlich hervortreten.

Von den fluoreszierenden Arealen der Mundhöhle werden zur Dokumentation und Identifizierung der

fluoreszierenden Areale mit einer hochauflösenden Farb-CCD-Videokamera inklusive dem entsprechenden Filtersystem Aufnahmen gemacht. Im Anschluss erfolgen die Weißlichtaufnahmen der entsprechenden Areale.

Dann werden die Bildausschnitte der Regio of interest mittels Framegrapper digitalisiert und der Datenbank patientenbezogen zugeordnet.



**Abbildung 2: Schematischer Versuchsaufbau zur Fluoreszenzanregung und visuellen Beobachtung**

#### **4.6. Allgemeiner Versuchsaufbau zur Fluoreszenzanregung**

Als leistungsstarke inkohärente Lichtquelle dient eine Xeron-Kurzbogenlampe (D-Light/AF-System, Storz, Tuttlingen, Deutschland). In einem mittels Fußschalter oder über die Kamerasteuerung schaltbaren Filterrad ist ein Kurzpassfilter ( $\lambda=440\text{ nm}$ ) montiert. Zusammen mit dem Emissions-

spektrum des Lichtsystems ergibt sich eine gute spektrale Überlappung mit der Absorptionsbande von PpIX. Das Glasfaserbündel des Beleuchtungskanals ist in einem Stück von der Einkoppelstelle in der Lichtquelle mit einer Lichtleistung von 200 mW zur Anregung der Fluoreszenz bis zum distalen Ende ausgeführt.

Der Farbkontrast wird durch Absorption (blau), Autofluoreszenz (grün) und PpIX-Fluoreszenz (rot) erzeugt. Der Anregungsfilter im D-Light/AF-System lässt nur violett-blaues Licht bis zu  $\lambda=440$  nm durch. Der Beobachtungsfilter ist so beschichtet, dass nur ein kleines spektrales Überschneidungsareal verbleibt. Dieses Areal dient der Beobachtung des zurückgesteuerten Anregungslichtes vom Gewebe bei einer Wellenlänge von  $\lambda=450$  nm (blau). Der Beobachtungsfilter ist nach BAUMGARTNER et al. (1999) im grünen Wellenlängenbereich (Autofluoreszenz) sowie im roten Anteil des Spektrums komplett durchlässig.

#### **4.7. Probeexzision und Histologie**

24 h nach der Fluoreszenzinspektion werden Probeexzision (PE) aus den klinisch suspekt erscheinenden Schleimhautarealen sowie den Fluoreszenz markierten Arealen gewonnen. Die Entnahme von Schleimhaut aus den fluoreszierenden Bereichen erfolgt entsprechend des Fluoreszenzbefundes. Die histologische Untersuchung der Präparate erfolgt im Institut für Pathologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Direktor: Prof. Dr. D. Katenkamp).

#### **4.8. Befundung der Fluoreszenzuntersuchungen**

Zur Beurteilung des subjektiven Faktors Arzt in der Auswertung der Befunde wurden 50 Weißlichtaufnahmen und die zugehörigen Fluoreszenzbilder von vier Zahnärzten unterschiedlichen Ausbildungsstandes befundet. Die befundenden Ärzte hatten mindestens 6 Wochen (Untersucher 1-3) und höchstens 6 Jahre (Untersucher 4) mit der Methode Erfahrung sammeln können. Alle waren mit der Tumornomenklatur und den Fluoreszenzaufnahmen vertraut (Tabellen 6-10).

Die 50 Befundbilder, durchnummeriert und gedruckt in Farbe auf transparente A4 Bögen, waren eine Auswahl der bösartigen und gutartigen Krankheitsbilder aus unserer Datenbank. Auf jedem Blatt sind mindestens jeweils zwei Bilder der Weißlicht- bzw. Fluoreszenzaufnahmen abgebildet.

Bei der Beurteilung der Befunde standen folgende Kriterien zur Auswahl:

- Maligne Tumoren
- Keine malignen Tumoren
- Tumorspezifische Fluoreszenz
- Bakterientypische Fluoreszenz
- Keine Angaben

Bei der Berechnung der Sensitivität bzw. Spezifität wurden folgende Punkte beachtet:

1. Als richtig alle Angaben von „richtig positiv“ und „richtig negativ“ betrachtet.
2. Als falsch wurden alle Angaben von „falsch positiv“ und „falsch negativ“ und „keine Angaben“ betrachtet.
3. Hat ein Untersucher keine Angaben gemacht, obwohl ein Tumor vorhanden war, wurde das als „falsch negativ“ gewertet.
4. Hat ein Untersucher keine Angaben gemacht, und es war kein Tumor vorhanden, wurde das als „falsch positiv“ gewertet.

Berechnung:

- Sensitivität = richtig positiv/(richtig positiv+falsch negativ)
- Spezifität = richtig negativ/(richtig negativ+falsch positiv)
- positiver Vorhersagewert (Korrektheit) = richtig positiv/(richtig positiv+falsch positiv)
- negativer Vorhersagewert (Korrektheit) = richtig negativ/(richtig negativ+falsch negativ)

Die richtigen Diagnosen der Fluoreszenzaufnahmen und die Auswertung der Untersucher sind in den Tabellen 6-10 zu sehen:



Tabelle 6: Die richtige Lösung der Fluoreszenzaufnahmen

	Maligne Tumoren	Keine malignen Tumoren	Tumorspezifische Fluoreszenz	Bakterientypische Fluoreszenz	Keine Angaben
1.	X				
2.	X				
3.	X				
4.		X			
5.	X				
6.	X				
7.	X				
8.	X				
9.		X			
10.	X				
11.	X				
12.	X				
13.	X				
14.	X				
15.		X			
16.	X				
17.		X			
18.		X			
19.	X				
20.		X			
21.	X				
22.	X				
23.	X				
24.	X				
25.		X			
26.	X				
27.	X				
28.		X			
29.	X				
30.	X				
31.		X			
32.	X				
33.	X				
34.	X				
35.		X			
36.		X			
37.		X			
38.	X				
39.		X			
40.	X				
41.	X				
42.	X				
43.	X				
44.		X			
45.	X				
46.		X			
47.	X				
48.	X				
49.		X			
50.	X				

Tabelle 7 : Die Auswertung des Untersuchers 1 DB

	Maligne Tumoren	Keine malignen Tumoren	Tumorspezifische Fluoreszenz	Bakterientypische Fluoreszenz	Keine Angaben
1.		X		X	
2.					X
3.	X		X		
4.		X		X	
5.	X				X
6.	X		X		
7.		X		X	
8.	X		X		
9.		X		X	
10.	X		X		
11.		X			
12.	X		X		
13.		X		X	
14.		X		X	
15.		X		X	
16.	X		X		
17.		X		X	
18.		X		X	
19.	X		X		
20.					X
21.		X		X	
22.	X		X		
23.	X		X		
24.	X		X		
25.		X		X	
26.	X		X		
27.	X				X
28.		X		X	
29.	X		X		
30.	X		X		
31.					X
32.	X		X		
33.		X		X	
34.		X		X	
35.					X
36.					X
37.	X		X		
38.	X		X		
39.	X		X		
40.		X		X	
41.		X			
42.	X		X		
43.	X		X		
44.		X		X	
45.	X		X		
46.		X		X	
47.	X		X		
48.		X		X	
49.		X		X	
50.	X		X		

Tabelle 8: Die Auswertung des Untersuchers 2 DR

	Maligne Tumoren	Keine malignen Tumoren	Tumorspezifische Fluoreszenz	Bakterientypische Fluoreszenz	Keine Angaben
1.		X		X	
2.		X		X	
3.	X		X		
4.		X		X	
5.	X				X
6.	X		X		
7.					X
8.					X
9.		X		X	
10.	X		X		
11.		X		X	
12.	X				X
13.	X		X		
14.	X		X		
15.		X		X	
16.	X		X		
17.		X		X	
18.		X		X	
19.	X		X		
20.		X			X
21.	X				X
22.	X				X
23.	X		X		
24.					X
25.		X		X	
26.	X		X		
27.	X				X
28.	X		X		
29.	X		X		
30.	X		X		
31.		X		X	
32.	X		X		
33.		X		X	
34.	X		X		
35.					X
36.		X		X	
37.		X	X		
38.		X		X	
39.					X
40.		X		X	
41.		X		X	
42.		X		X	
43.	X		X		
44.		X		X	
45.					X
46.		X		X	
47.	X		X		
48.		X		X	
49.		X		X	
50.	X		X		

Tabelle 9: Die Auswertung des Untersuchers 3 DS

	Maligne Tumoren	Keine malignen Tumoren	Tumorspezifische Fluoreszenz	Bakterientypische Fluoreszenz	Keine Angaben	
1.		X		X		
2.	X			X		
3.	X		X			
4.		X			X	
5.	X				X	
6.	X		X			
7.	X				X	
8.	X		X			
9.		X			X	
10.	X		X			
11.	X				X	
12.	X		X			
13.		X		X		
14.	X		X			
15.	X		X			
16.	X		X			
17.		X	X			
18.		X		X		
19.	X		X			
20.	X				X	
21.	X		X			
22.	X					
23.	X		X			
24.	X		X			
25.		X		X		
26.	X			X		
27.	X					
28.	X		X			
29.	X			X		
30.	X		X			
31.	X			X		
32.	X		X			
33.		X		X		
34.	X		X			
35.	X					
36.		X				
37.	X		X			
38.	X		X			
39.	X		X			
40.		X		X		
41.	X					
42.	X		X			
43.	X		X			
44.	X		X			
45.	X		X			
46.		X				
47.	X		X			
48.	X			X		
49.	X			X		
50.	X		X	X		

Tabelle 10: Die Auswertung des Untersuchers 4 PS

	Maligne Tumoren	Keine malignen Tumoren	Tumorspezifische Fluoreszenz	Bakterientypische Fluoreszenz	Keine Angaben	
1.		X		X		
2.		X				
3.	X					
4.		X				
5.	X					
6.	X					
7.	X					
8.	X		X			
9.		X				
10.	X					
11.	X					
12.		X				
13.	X					
14.	X					
15.	X					
16.	X					
17.		X		X		
18.				X		
19.	X		X			
20.		X				
21.	X					
22.	X					
23.	X					
24.	X		X			
25.				X		
26.	X					
27.					X	
28.				X		
29.	X					
30.	X					
31.				X		
32.				X		
33.				X		
34.	X					
35.		X				
36.		X				
37.	X		X			
38.				X		
39.				X		
40.				X		
41.					X	
42.				X		
43.	X					
44.		X				
45.	X		X			
46.		X				
47.		X				
48.		X				
49.				X		
50.	X					

#### 4.9. Mathematisch-statistische Methoden

Die mathematisch-statistischen Berechnungen wurden mit dem Programmpaket SPSS für Windows, Version 8.0, durchgeführt, sowie Tabellen und Grafiken mit Excel Office XP erstellt.

Für die beschreibende Statistik wurden für metrische Merkmale das arithmetische Mittel (Mittelwert), die Standardabweichung, das Minimum und das Maximum berechnet. Bei ordinal oder nominal skalierten Merkmalen wurden die absolute und die relative (prozentuale) Häufigkeit ermittelt.

Die Korrektheit der Bildbefundung wurde mit der Berechnung von Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem Vorhersagewert beschrieben.

Für die Patientengruppe wurde für das Alter Normalverteilung vorausgesetzt, die Stichprobe war ausreichend groß. Beim Alters-Gruppenvergleich kam der t-Test für unabhängige Stichproben (Geschlechtervergleich) zur Anwendung. Im multivariaten Fall (Diagnosegruppenvergleich) wurde die einfaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem Duncan-Test zur Identifizierung der Gruppen, die sich signifikant im Altersdurchschnitt unterscheiden, angewandt.

Für die Analyse der Häufigkeitsverteilung wurde der Chi-Quadrat-Test (Kontingenztafelanalyse) z.B. bei **Verteilung der Primärlokalisation der Tumorarten, der Geschlechtsverteilung** und der **Signifikanzprüfung aller Untersucher** angewandt. Als Testgröße wurde der Kontingenzkoeffizient nach Pearson gewählt. Im Falle von Signifikanzen wurden die standardisierten Residuen ausgewertet, die Auskunft darüber geben, welche Zellen für die Gesamtsignifikanz verantwortlich sind. Standardisierte Residuen oberhalb  $\pm 2,0$  sind interessant. Sie berechtigen zu der Aussage, wo sich signifikant mehr bzw. weniger beobachtete Fälle befinden als man bei Gleichverteilung der Häufigkeiten erwartet hätte.

Die Analyse von **Durchschnittsalter und Altersverteilung bei untersuchten Patienten** wurde mittels mehrdimensionaler Kontingenztafel angewandt.

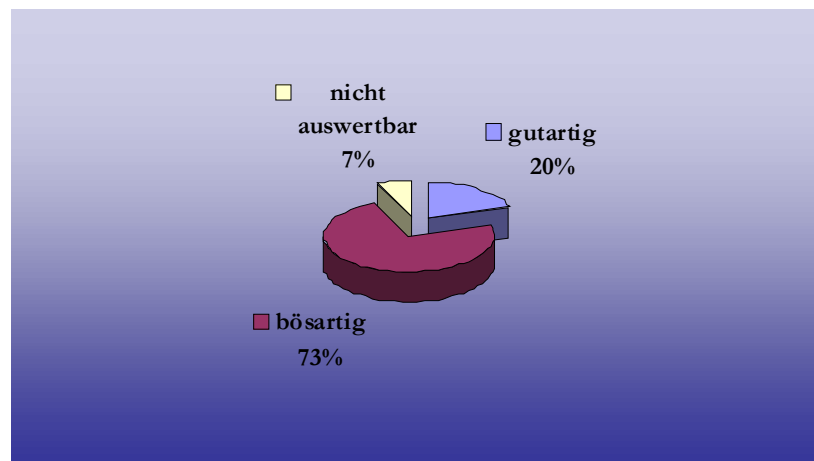
Die vereinbarte Irrtumswahrscheinlichkeit lag bei  $\alpha=5\%$ . SPSS berechnet bei jedem Test die exakte Irrtumswahrscheinlichkeit „p“, die zwischen 0 und 1 liegen kann. Zur Kennzeichnung des Grades des errechneten Signifikanzniveaus wurden folgende Symbole verwandt:

$p \leq 0,05$	*	(= $\alpha 5\%$ )
$p \leq 0,01$	**	(= $\alpha 1\%$ )
$p \leq 0,001$	***	(= $\alpha 0,1\%$ ).

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Patienten

Bei den N = 379 untersuchten Patienten machten prozentual die männlichen Patienten 63% und die weiblichen Patienten 37% der gesamten Patienten aus (Abbildung 3).



**Abbildung 3 : Unterteilung der Befunde der Patienten (n=379) für den Zeitraum der Untersuchungen vom 1996-2002**

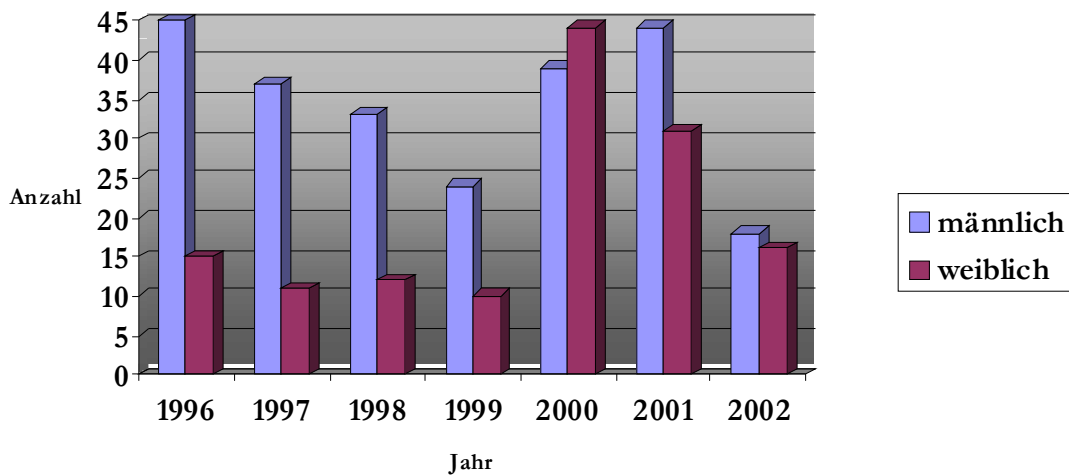
Tabelle 11 gibt einen Überblick über den Anteil männlicher und weiblicher Patienten sowie Angaben über die Altersverteilung. Das Durchschnittsalter der weiblichen Patienten (64,1 Jahre) ist signifikant höher als das der männlichen (59,1 Jahre) mit  $p=0,001$  \*\*\*. Das Ergebnis wurde mit dem t-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Das Verhältnis erkrankter Männer zu Frauen betrug 1,7 : 1.

**Tabelle 11: Angaben zur Alters- und Geschlechtsverteilung**

	Anzahl der Patienten (n)	Anteil am Gesamt-krankengut	Mittelwert Alter	Standard-abweichung	Altersspanne
<b>männlich</b>	240	63,30%	59,1	11,8	23-98
<b>weiblich</b>	139	36,7 %	64,1	14,6	21-92
<b>gesamt</b>	379	100 %	60,9	13,1	21-98

Die Verteilung der jährlich durchgeführten ALA-Untersuchungen im Beobachtungszeitraum ist in Abbildung 4 dargestellt. Die Geschlechtsverteilung war über die Jahre statistisch gesehen gleich, mit Ausnahme des Jahres 2000, dort überwiegen deutlich weibliche Patienten (n=44) als männliche (n=39)

auch im Vergleich zu anderen Jahren ( $p = 0,00123^{**}$ ).



**Abbildung 4: Verteilung der jährlich durchgeführten ALA-Untersuchungen im Beobachtungszeitraum**

## 5.2. Verteilung der Primärlokalisation der Tumorarten

In Abbildung 5 und 6 sind die Verteilung der Primärlokalisation der bösartigen Tumorarten sowie benigne Tumoren, Sonstiges und nicht auswertbare Diagnosen dargestellt worden. Ersichtlich sind die Anzahl der betroffenen Patienten und deren jeweiliger prozentualer Anteil.

Mit der Diagnose Mundbodenkarzinom waren die männlichen Patienten ( $n=77$ ) deutlich häufiger betroffen als die weiblichen ( $n=19$ ). Bei männlichen Patienten stehen die Lippenkarzinome ( $n=33$ ) und Zungenkarzinome ( $n=31$ ) an der zweiten und dritten Stelle. Bei weiblichen Patienten traten dagegen die Zungenkarzinome ( $n=29$ ) am häufigsten auf, gefolgt von Mundbodenkarzinomen ( $n=19$ ) und der oralen Leukoplakie und dem Lichen ruber planus ( $n=17$ ). Benigne Tumoren kamen dagegen statistisch gesehen häufiger bei weiblichen Patienten ( $n=14$ ) vor. Die restlichen Diagnosen verhielten sich statistisch gesehen gleich ( $p = 0,00001^{***}$ ).

Bezüglich der Prozentanteile der Diagnosen überwiegt insgesamt die Diagnose Mundhöhlenkarzinome mit 25,3%, gefolgt vom Zungenkarzinom mit 15,8%, Lippenkarzinom mit 11,9%, der oralen Leukoplakie und dem Lichen ruber planus mit 10,3%. Am geringsten wurde das Auftreten von



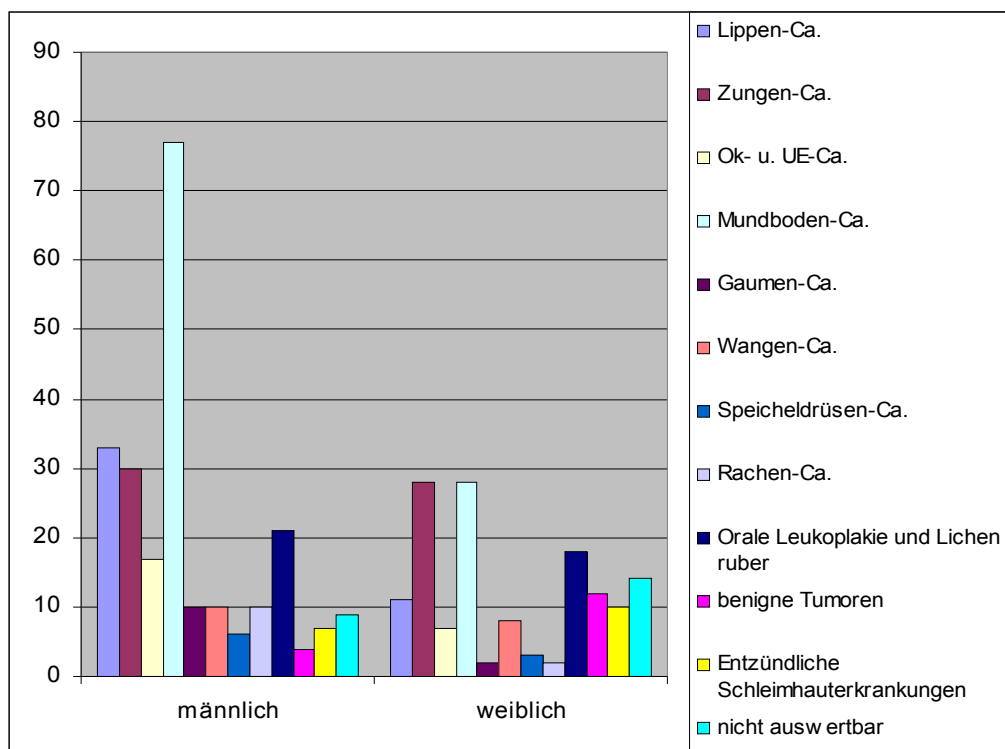
Speicheldrüsenkarzinomen mit 2,4% beobachtet.

Bei den in der Mundhöhle gefundenen benignen Tumoren handelte es sich dabei um Plasmozytome, Papillomatose, Hämangiome, Fibrome, zentrale Riesenzellgranulome, Osteome, Epulis gigantocellularis und Granuloma pediculatum (Granuloma pyogenicum).

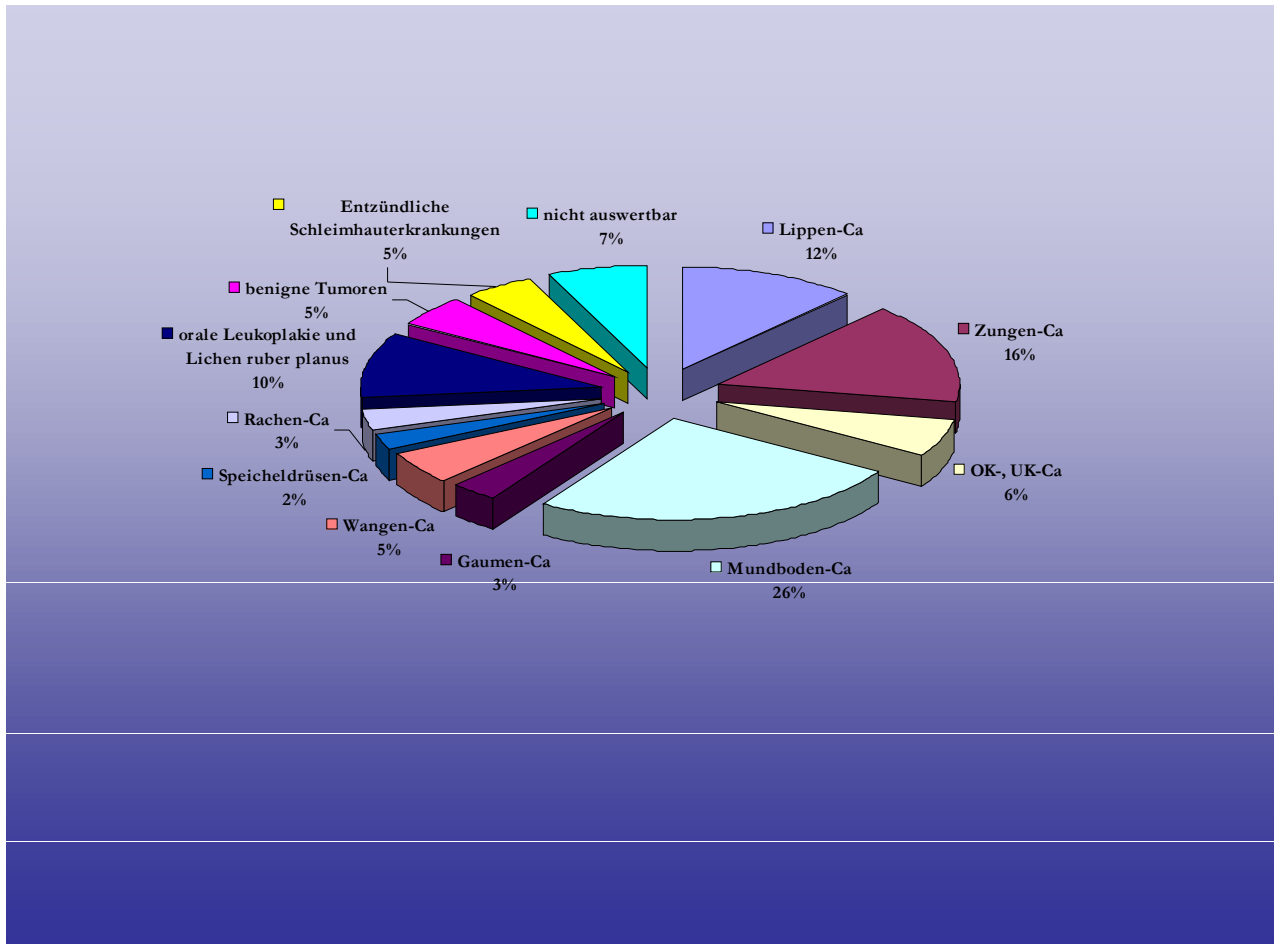
Unter „Entzündliche Schleimhauterkrankungen“ wurden folgende Diagnosen zusammengefasst:

Gingivitis, Mundhöhlenentzündung, Mundschleimhautulkus, Benignes Schleimhautpemphigoid, Psoriasis vulgaris, orale submuköse Fibrose und auf der Grundlage von ICD-10-SGBV sonstige Erkrankungen der Zunge.

Unter der Einteilung „nicht auswertbar“ sind die Befunde zu verstehen, die nicht vollständig oder nicht eindeutig bezeichnet und klassifizierbar waren, sodass eine Einteilung nicht möglich war.



**Abbildung 5: Verteilung der Primärlokalisation der Tumorarten bei den untersuchten Patienten**



**Abbildung 6: Prozentanteile der Diagnosen für den Zeitraum der Untersuchungen von 1996-2002**

### 5.3. 5-ALA-induzierte Symptome

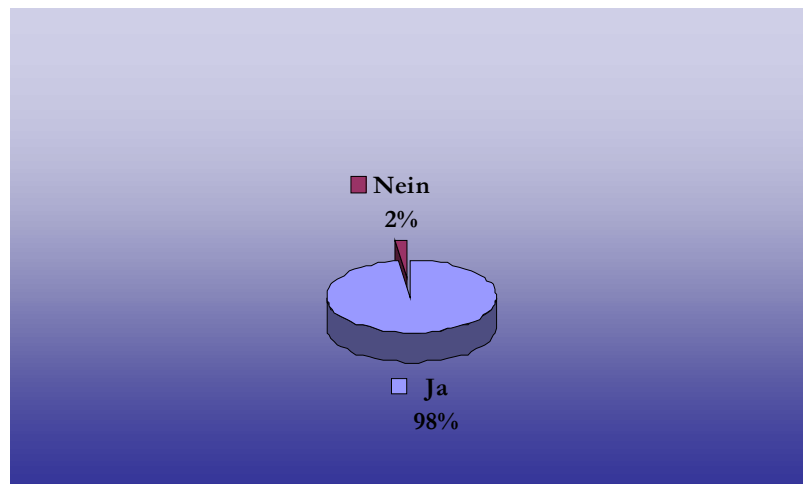
Nach topischer (Mundspülung) 5-ALA-Applikation wurde während der Fluoreszenzdiagnostik bei mehreren Patienten ein leichtes Brennen im Bereich der untersuchten Mundschleimhaut angegeben.

#### 5.3.1. Fluoreszenzdiagnostik

Es wurden insgesamt n=278 maligne Tumoren der Mundhöhle, n=39 orale Leukoplakie und Lichen ruber planus, n=19 benigne Tumore und n=18 entzündliche Schleimhautrekrankungen der Mundhöhle festgestellt. Bei 25 Patienten war retrospektiv keine eindeutige Klassifizierung möglich. Hierbei

handelte es sich um Patienten, die nach der Fluoreszenzuntersuchung unser Klinikum nicht weiter frequentierten.

Bei Verdacht auf Karzinome n=221 Patienten wurden Probeexzisionen durchgeführt und ausgewertet. Von n=221 in die Auswertung einbezogenen Fällen konnte bei 216 Patienten die klinische Diagnose bestätigt werden (Abbildung 7). Das entspricht einer Sensitivität (Prozentanteil richtig positiver Befunde) von 98%.



**Abbildung 7: Korrelation der klinischen und histopathologischen Diagnosestellung der untersuchten Patienten**

Bei n=278 der untersuchten Patienten (73%) mit klinisch suspekten Schleimhautarealen wurde ein Plattenepithelkarzinom nachgewiesen. Histologisch gesicherte maligne Gewebsveränderungen mit therapeutischer Konsequenz bzw. maligne Befunde (Cis, invasives PE-Ca) konnten mit der FD bestätigt werden. Die in der Tabelle 12 aufgelisteten Fälle führten zu einer falsch positiven Diagnose.

**Tabelle 12: histologische Befunde der 5 falsch positiv diagnostizierten Fälle**

Klinische Diagnose	Histologischer Befund
Chronisches Ulkus am Zungenrücken	Sklerosierendes kavernöses Lymphangiom
Bösartige Neubildung im Oberkiefer	Hochgradige verruköse Hyperplasie und Parakeratose der oralen Mukosa
Fibrom der Unterlippe	Lobuläres kapilläres Hämangiom
Lichen ruber planus, Planum buccale bds.	Ulkus
Granuloma pediculatum (Granuloma pyogenicum)	Leukoplakie und Hämangiom

Bei n=22 der untersuchten Patienten fanden sich fluoreszierende Areale, deren Untersuchung keinen Hinweis auf eine maligne Transformation des Gewebes lieferte.

#### 5.4. Durchschnittsalter und Altersverteilung bei untersuchten Patienten

Ein Überblick über das Durchschnittsalter der untersuchten Patienten ist in Abbildungen 8 und 9 zu sehen. Es ist erkennbar, dass

1. Lippenkarzinome ab 70 Jahre signifikant häufiger sind als in jungen Jahren (besonders auffällig die Altersgruppe 40-49),
2. Mundbodenkarzinome am häufigsten in der Altersgruppe der 50-59jährigen auftreten, am seltensten ab 80,
3. Wangenkarzinome und Rachenkarzinome statistisch gesehen häufiger bei den 40-49 jährigen aufgetreten sind als erwartet,
4. Speicheldrüsenkarzinome bei den ab 80jährigen häufiger auftreten als erwartet,
5. benigne Tumore am häufigsten bei den 60-69jährigen sind,
6. entzündliche Schleimhauterkrankungen und orale Leukoplakie/Lichen ruber planus häufiger bei der jüngsten Altersgruppe sind als erwartet.

Alle anderen Diagnosen waren statistisch gesehen unauffällig und damit über alle Altersgruppen so wie erwartet. Einen Überblick findet man in der Tabelle 13.

Mittels mehrdimensionaler Kontingenztafel ergab sich eine Signifikanz in der Altersverteilung für die Diagnosen mit  $p = 0,00000***$ .

Tabelle 13: Durchschnittsalter der Patienten im gesamten Zeitraum der ALA-Untersuchungen

	Alle			männlich			weiblich		
	Mittelwert	Std.abw.	Min./Max	Mittelwert	Std.abw.	Min./Max	Mittelwert	Std.abw.	Min./Max
<b>Gesamt</b>	60,9	13,1	21-98	<b>59,1</b>	11,8	23-98	<b>64,1</b>	14,6	21-92
<b>Aufnahmejahr</b>									
1996	62,5	11,4	42-89	59,3	9,9	42-88	72,0	10,4	57-89
1997	61,9	11,9	39-92	60,9	11,3	42-86	65,4	13,8	40
1998	64,1	14,0	31-98	62,8	13,7	39-98	67,6	14,8	31-87
1999	58,6	11,5	40-92	56,5	7,5	45-80	63,7	17,4	40-92
2000	59,7	14,3	25-91	55,3	12,4	30-89	63,7	14,9	25-91
2001	59,1	14,9	21-85	58,8	13,6	23-82	59,5	16,7	21-85
2002	62,0	10,4	38-82	60,7	11,1	38-82	63,4	9,7	48-82

Tabelle 14: Durchschnittsalter der Patienten bei unterschiedlichen Diagnosen

Diagnose	Alle			männlich			weiblich		
	Mittelwert	Std.abw.	Min/Max	Mittelwert	Std.abw.	Min/Max	Mittelwert	Std.abw.	Min/Max
Lippenkarzinome	70,4	10,8	51-92	67,8	9,7	51-83	77,8	10,5	59-92
Zungenkarzinome	62,5	11,8	38-92	59,2	10,6	38-89	65,9	12,2	40-92
OK- und UK-Karzinome	64,3	11,7	42-84	60,4	11,1	42-84	73,1	7,9	61-82
Mundbodenkarzinome	58,0	10,5	39-89	55,4	8,8	39-79	68,4	10,6	52-89
Gaumenkarzinome	58,7	12,8	39-78	59,4	13,1	39-78	51,0	*	51
Wangenkarzinome	62,3	17,3	31-91	60,5	13,5	42-88	64,6	21,7	31-91
Speicheldrüsentumore	68,4	17,2	45-98	73,3	18,2	48-98	58,7	12,1	45-68
Rachenkarzinome	55,4	10,4	42-81	53,6	7,6	42-63	65,0	22,6	49-81
orale Leukoplakie und Lichen ruber planus	56,4	14,3	21-86	57,0	13,7	30-82	55,6	15,4	21-86
benigne Tumore	64,7	10,6	43-89	60,2	11,0	43-71	66,4	10,3	52-89
Entzündliche Schleimhautrekrankungen	53,6	14,8	23-82	52,0	18,7	23-82	54,6	12,7	25-69
nicht auswertbar	57,9	14,8	21-78	61,0	13,1	37-77	55,9	15,9	21-78

\* nur 1 Fall

Tabelle 15: Altersverteilung bei den untersuchten Patienten

Altersgruppe																				
20-29			30-39			40-49			50-59			60-69			70-79			ab 80		
	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]
<b>Gesamt</b>	6	1,6	8	2,1	61	16,1	95	25,1	117	30,9	57	15,0	61	16,1						
<b>Geschlecht</b>																				
männlich	1	0,4	6	2,5	49	20,4	67	27,9	72	30	31	12,9	49	20,4						
weiblich	5	3,6	2	1,4	12	8,6	28	20,1	45	32,4	26	18,7	12	8,6						
<b>Diagnose</b>																				
Lippen-Ca	0	0,0	0	0,0	0	0,0	7	15,6	13	28,9	16	35,6	0	0,0						
Zungen-Ca	0	0,0	1	1,7	8	13,3	14	23,3	23	38,3	8	13,3	8	13,3						
OK- und UK-Ca	0	0,0	0	0,0	4	17,4	4	17,4	8	34,8	4	17,4	4	17,4						
Mundboden-Ca	0	0,0	1	1,0	19	19,8	38	39,6	24	25,0	11	11,5	19	19,8						
Gaumen-Ca	0	0,0	1	8,3	3	25,0	2	16,7	2	16,7	4	33,3	3	25,0						
Wangen-Ca	0	0,0	2	10,0	2	10,0	7	35,0	2	10,0	3	15,0	2	10,0						
Speicheldrüse-Ca	0	0,0	0	0,0	2	22,2	0	0,0	4	44,4	0	0,0	2	22,2						
Rachen-Ca	0	0,0	0	0,0	5	38,5	3	23,1	4	30,8	0	0,0	5	38,5						
Orale Leukoplakie und Lichen ruber planus	2	5,1	2	5,1	9	23,1	9	23,1	10	25,6	4	10,3	9	23,1						
benigne Tumore	0	0,0	0	0,0	1	5,3	3	15,8	11	57,9	2	10,5	1	5,3						
Entzündliche Schleimhautrekrankungen	2	11,1	0	0,0	5	27,8	4	22,2	6	33,3	0	0,0	5	27,8						

•Bei kursiv fett sind weniger Fälle als erwartet / nur fett geschrieben mehr Fälle als erwartet.

• Bei kursiv fett sind weniger Fälle als erwartet / nur fett geschrieben mehr Fälle als erwartet.







Die Tabelle 16 gilt als Ergänzung zu Tabelle 15, wobei nur die Häufigkeiten statistisch verglichen wurden.

Die Signifikanztestung erfolgte über das direkte Alter in Jahren für die einzelnen Diagnosen. Zur Anwendung kam die einfaktorielle Varianzanalyse. Der Duncan-Test zeigt dabei, welche Diagnosegruppen sich im Alter signifikant voneinander unterscheiden. Das Testergebnis war mit  $p=0,0000$  \*\*\* hochsignifikant. Fälle, wo keine Diagnose möglich war, wurden auch hier nicht miteinbezogen.

#### 5.4. Beurteilung des subjektiven Faktors Arzt

Ein Überblick über die Ergebnisse der Befundung von 50 Fluoreszenzaufnahmen durch vier Zahnärzte ist in Abbildung 8 zu sehen.

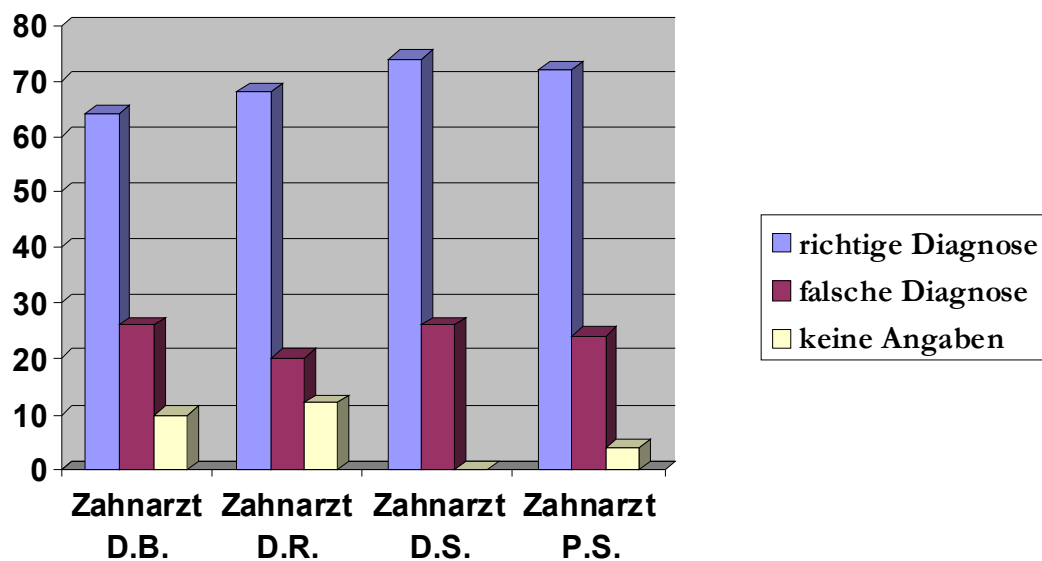


Abbildung 8: Auswertung der 50 Weißlicht- und Fluoreszenzaufnahmen durch die Zahnärzte

Tabelle 17: Sensitivität, Spezifität und Vorhersagewerte

	Untersucher 1 D.B.	Untersucher 2 D.R.	Untersucher 3 D.S.	Untersucher 4 P.S.
<b>Sensitivität</b>	0,6471	0,6176	<b>0,8824</b>	0,6471
<b>Spezifität</b>	0,6250	0,8125	0,4375	<b>0,8750</b>
<b>Positiver Vorhersagewert</b>	0,7857	0,8750	0,7692	<b>0,9167</b>
<b>negativer Vorhersagewert</b>	0,4545	0,5000	<b>0,6364</b>	0,5385

Das Ergebnis der Auswertungen kann man folgenderweise zusammenfassen:

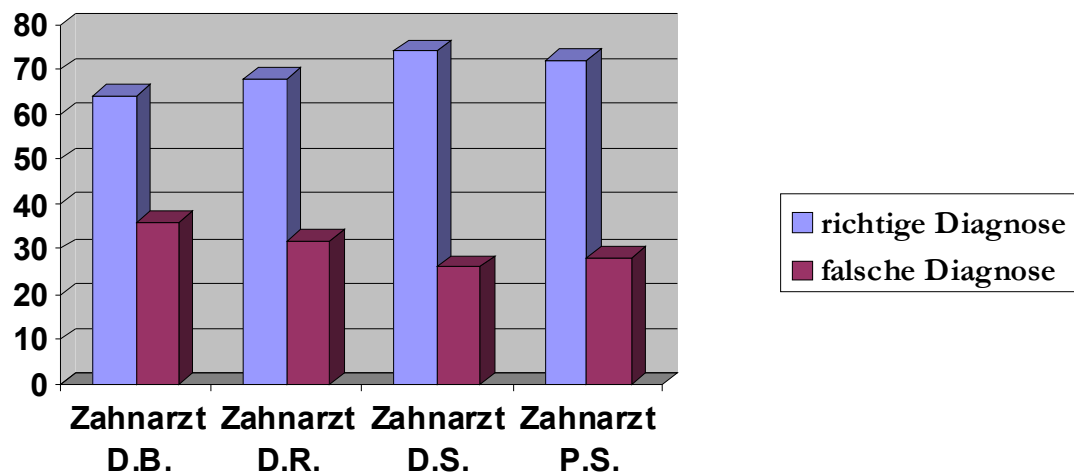
- die jeweils höchsten Werte wurden fett markiert, Signifikanzberechnungen sind hier nicht möglich,
- die Sensitivität (ein Kranker wird auch als krank erkannt) war bei allen Untersuchern annähernd gleich mit Ausnahme vom Untersucher 3, der bei 74% die richtige Diagnose gestellt hatte,
- die Spezifität (ein Gesunder wird als gesund erkannt) war bei dem Untersucher 4 mit einem Wert vom 0,8750 am besten
- die Vorhersagewerte bestätigen, dass es offensichtlich leichter ist einen bestehenden Tumor richtig zu erkennen, als einen nicht bestehenden Tumor zu diagnostizieren, weil die negativen Vorhersagewerte dabei schlechter ausgefallen sind.

Tabelle 18: Zusammenfassung der Ergebnisse in die Kategorien „RICHTIG“ und „FALSCH“

Korrektheit	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]
<b>Richtig</b>	50	100,00	32	64,00	34	68,00	37	74,00	30	72,00
<b>Falsch</b>	0	0,00	18	36,00	16	32,00	13	26,00	20	28,00

Das Ergebnis der Auswertungen kann man folgenderweise zusammenfassen:

- der Untersucher 3 lag bei 74% seiner Befundung richtig und hatte die richtige Diagnose gestellt, gefolgt vom Untersucher 4 mit 72%,
- der Untersucher 1 schneidet mit 36% seiner Befundung am schlechtesten ab, gefolgt vom Untersucher 2 mit 32%.



**Abbildung 9 : Auswertung der Fluoreszenzbefunde durch Zahnärzte unterschiedlicher Qualifikation**

Bei der Signifikanzprüfung aller Untersucher sind folgende Ergebnisse zu verzeichnen:

- Es gab bei der Einteilung nur in „richtig“ und „falsch“ keine signifikanten Unterschiede (n.s.) zwischen den 4 Untersuchern (siehe Tabelle 18),
- „keine Angaben“ wurden hier die zu falsch gesetzt, daher ist die Korrektheit bei allen statistisch gesehen gleich gut oder gleich schlecht

**Tabelle 19: Signifikanzprüfung, ob sich die 4 Untersucher in ihrer Korrektheit unterscheiden  
Vergleich der Kategorie „RICHTIG“, „FALSCH“**

	Untersucher 2	Untersucher 3	Untersucher 4
Untersucher 1	n.s. $p=0,67288$	n.s. $p=0,27965$	n.s. $p=0,39117$
Untersucher 2		n.s. $p=0,50852$	n.s. $p=0,66252$
Untersucher 3			n.s. $p=0,82179$

**Tabelle 20: Signifikanzprüfung, ob sich die 4 Untersucher in ihrer Korrektheit unterscheiden  
Vergleich der Kategorie „RICHTIG“, „FALSCH“ und „KEINE ANGABEN“**

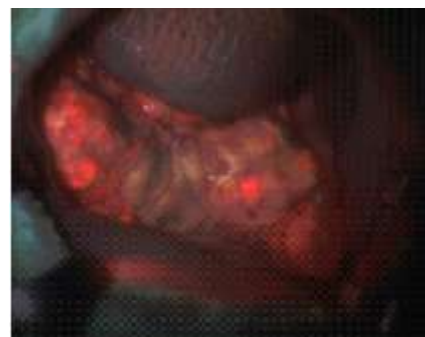
	Untersucher 2	Untersucher 3	Untersucher 4
Untersucher 1	n.s. $p=0,76230$	n.s. $p=0,06848$	n.s. $p=0,45817$
Untersucher 2		s. * $p=0,03843$	n.s. $p=0,32645$
Untersucher 3			n.s. $p=0,35813$

Bei der Signifikanzprüfung für den Untersucher 4, der die meisten Erfahrungen mit der Fluoreszenzdiagnostik gesammelt hat, sind folgende Ergebnisse zu verzeichnen:

- wenn man die Kategorie „keine Angabe“ eigenständig lässt, ergibt sich zwischen Untersucher 2 und 3 Signifikanz (bei  $p < 0,05$  ein Stern),
- die Ergebnisse im Diagramm Abb. 8 zeigen die Ursachen für diese Signifikanz, Untersucher 3 hat immer alle Angaben gemacht und lag dabei in 74 % der Fälle richtig, die statistische Signifikanz zu Untersucher 2 begründet sich jedoch einzig auf der Differenz zu „keine Angaben“.

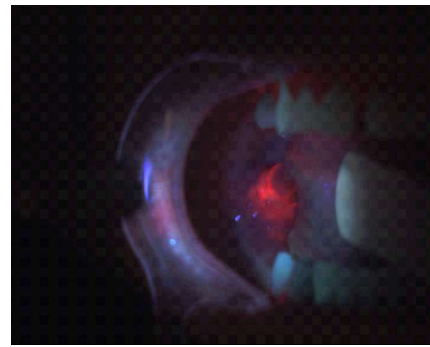
### 5.5. Beispiele der bildgebenden Fluoreszenzdiagnostik

Bei den Abbildungen 10 bis 23 handelt es sich um einige Beispiele von den Aufnahmen mit Weiß- bzw. Fluoreszenzlicht bei den untersuchten Patienten:



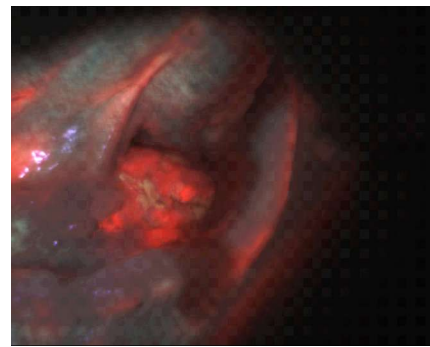
**Abbildung 10:**

Diagnostik eines Mundbodenkarzinoms eines 52-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar dar.



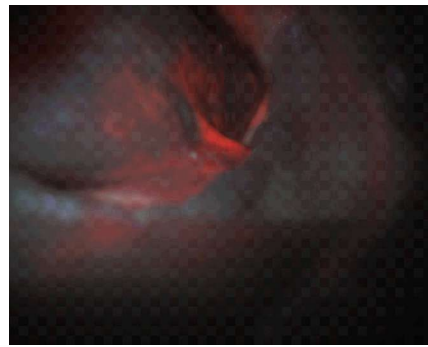
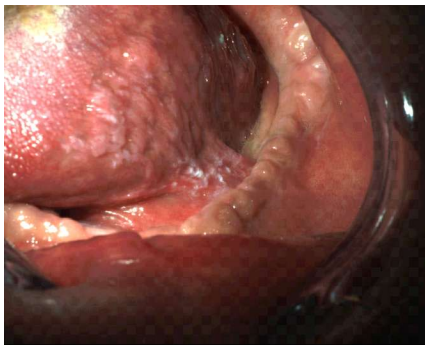
**Abbildung 11:**

Diagnostik eines Unterkieferzahnfleischkarzinoms einer 61-jährigen Patientin. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich unter Fluoreszenzausleuchtung eine verdächtige Rotfärbung des rechten Unterkiefers. Histologisch konnte hier die Diagnosestellung gesichert werden.



**Abbildung 12:**

Diagnostik eines Mundbodenkarzinoms eines 60-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit kann anhand des Fluoreszenzbefundes ein Tumorausläufer in Richtung Mundboden erkannt werden, der sich histologisch auch als PE-Ca erwies.



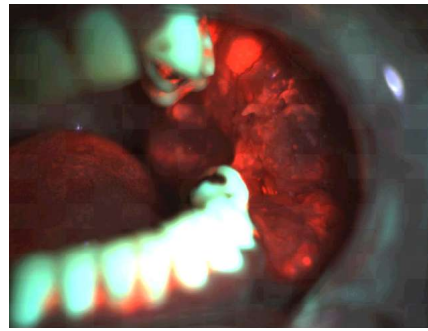
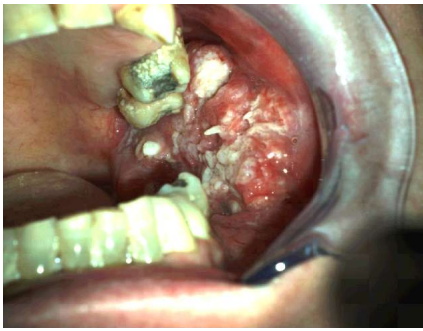
**Abbildung 13:**

Diagnostik eines Mundbodenkarzinoms einer 53-jährigen Patientin. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit ergibt die Fluoreszenzdetektion einen begrenzten Rotfluoreszenzbereich, der die Tumorselektion erheblich erleichterte.



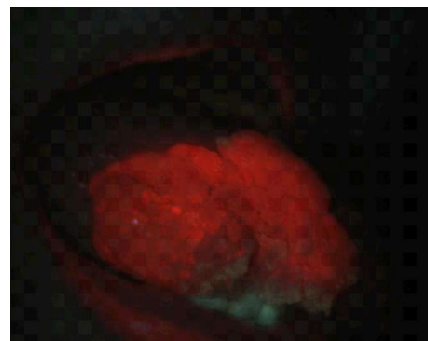
**Abbildung 14:**

Diagnostik eines Karzinoms des weichen Gaumens und Uvula eines 66-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar dar.



**Abbildung 15:**

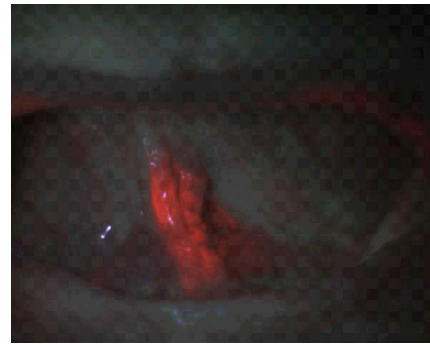
Diagnostik eines Karzinoms der Wangenschleimhaut einer 59-jährigen Patientin. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar dar.



**Abbildung 16:**

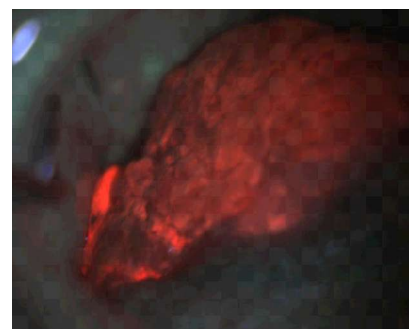
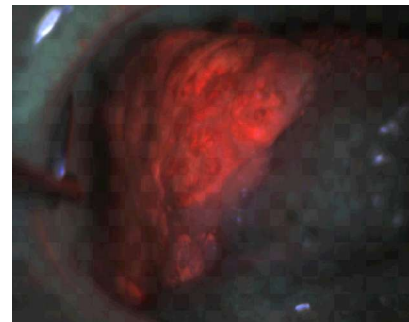
Diagnostik eines Karzinoms des rechten Zungenrandes einer 72-jährigen Patientin. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich an der Zungenoberfläche der Zunge der Tumor mit typischer Rotfluoreszenz.





**Abbildung 17:**

Diagnostik eines Zungenkarzinoms eines 67-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich der Tumor eindeutig im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar.



**Abbildung 18:**

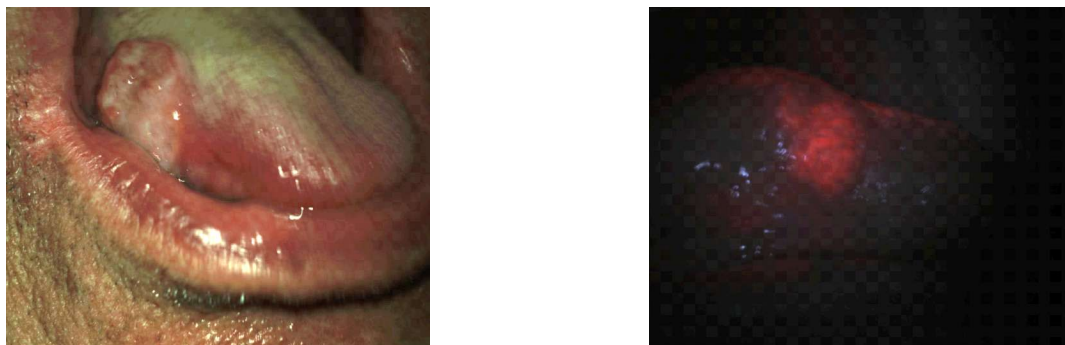
Diagnostik eines Karzinoms des rechten Zungenrandes eines 65-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich an der Zungenoberfläche der Zunge der Tumor mit typischer Rotfluoreszenz.





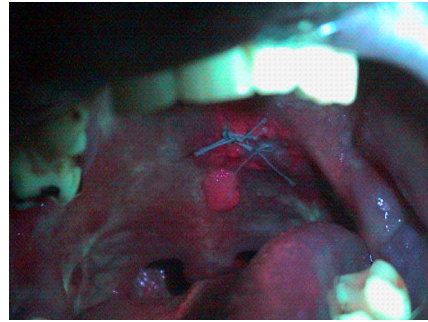
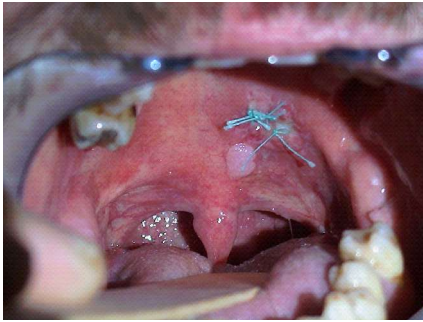
**Abbildung 19:**

Diagnostik eines Karzinoms des rechten Zungenrandes einer 63-jährigen Patientin. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich an der Zungenoberfläche der Tumor mit typischer Rotfluoreszenz. Eine falsch positive Rotfluoreszenz, die auf Bakterienbeläge zurückzuführen ist, ist auch zu sehen.



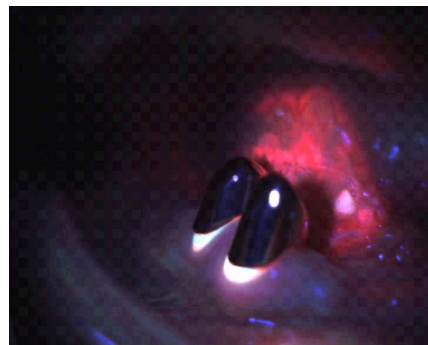
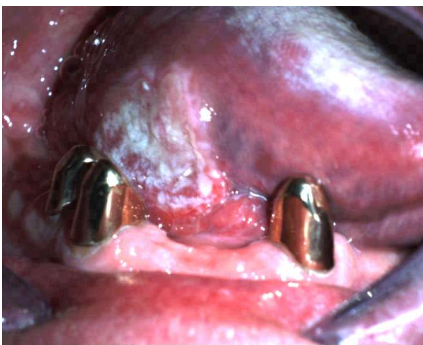
**Abbildung 20:**

Diagnostik eines Zungenkarzinoms eines 76-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik als umschriebener Rotfluoreszenzbereich kontrastreich differenzierbar dar.



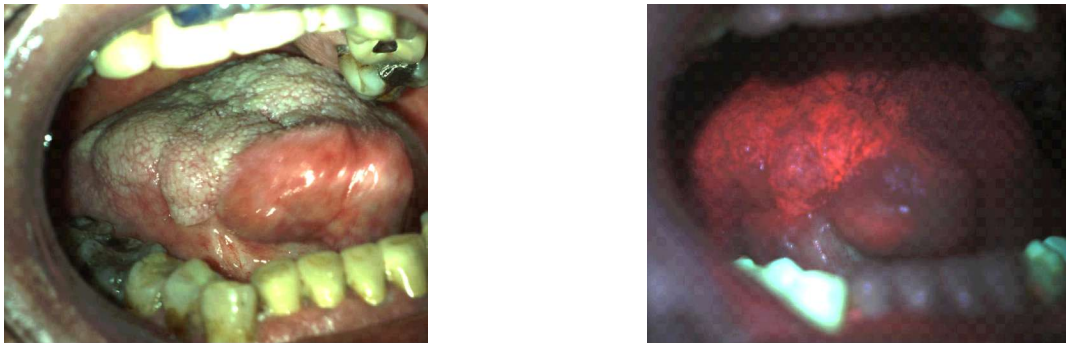
**Abbildung 21:**

Diagnostik eines Karzinoms des weichen Gaumens eines 51-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik sehr kontrastreich gegenüber gesundem Gewebe dar.



**Abbildung 22:**

Diagnostik eines Mundbodenkarzinoms eines 49-jährigen Patienten. Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit stellte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar dar.



**Abbildung 23:**

Diagnostik eines Zungenkarzinoms eines 61-jährigen Patienten.

Nach 20-minütiger 5-ALA Applikation und Inkubationszeit zeigte sich der Tumor im Vergleich zur Weißlicht- und Fluoreszenzdiagnostik kontrastreich differenzierbar dar.

## 6. Diskussion

Durch die Entwicklung der Aminolävulinsäure 5-ALA, dem ersten Syntheseprodukt der Häm-Biosynthese, ist in der Fluoreszenzdiagnostik ein großer Fortschritt erzielt worden. Die vorliegende Studie zeigt, dass die Früherkennung von Karzinomen durch ALA-gestützte FD gesteigert werden kann. Darüber hinaus lässt sich feststellen, dass die überaus problematische Diagnostik von Primärtumoren bzw. von Rezidiv- oder Residualtumoren mit Hilfe dieser Methode erheblich verbessert werden kann.

Ferner beobachten wir, dass mittels dieses Verfahrens eine höhere Treffsicherheit in der Diagnostik von Karzinomen der Mundhöhle erricht werden kann. Im Rahmen dieser Studie wurden jeweils 50 Fluoreszenzaufnahmen von vier Zahnärzten, die einen unterschiedlichen Ausbildungsstand aufwiesen, ausgewertet. Es lässt sich beobachten, dass die Karzinome insgesamt sensibler diagnostiziert als ausgeschlossen werden können. Bei allen Untersuchern war die Sensitivität (ein tatsächlich Kranker wird auch als solcher eingestuft) annähernd gleich mit Ausnahme vom Untersucher 3, der bei 74% der Fälle die richtige Diagnose stellen konnte. Die Spezifität (ein Gesunder wird als gesund erkannt) war bei dem Untersucher 4, der Zahnarzt mit dem höchsten Ausbildungsgrad und der größten Berufserfahrung, mit einem Wert von 0,8750 am besten.

Um die Methode und die Diagnostik innerhalb der Fluoreszenzdiagnostik zu positionieren, soll zunächst kurz auf das methodische Verfahren eingegangen werden und bisherige Verfahren im Vergleich zur vorliegenden Studie herangezogen werden.

Unter Fluoreszenz versteht man physikalisch die Lichtemission durch Atome oder Moleküle, die durch Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt wird. Eine Fluoreszenz, die beobachtet wird, kann sowohl von endogenen Fluorophoren, die als natürliche Gewebebestandteile vorkommen, als auch von exogen zugeführten Fluorophoren ausgehen. Die von endogenen Bestandteilen des Gewebes ausgehende Fluoreszenz wird als Eigen- oder Autofluoreszenz bezeichnet. Die Fluoreszenzintensität im menschlichen Gewebe ist nicht nur von der Konzentration der Fluorochrome abhängig, sondern auch von der Absorption durch Hämoglobin, der Steuerung des Anregungslichtes und der Schichtdicke des Epithels. Die Abnahme der Fluoreszenz eines Stoffes unter Lichteinwirkung entspricht der photochemischen Umwandlung in sog. „Photoprodukte“. Die Stärke des Ausbleichens ist im gleichen Maße wie die Absorption abhängig von der Wellenlänge des Lichtes. In Spektralbereichen starker Absorption und Fluoreszenzanregung ist auch das Ausbleichen am stärksten. Sowohl Weißlicht als auch Fluoreszenzlicht können diesen Effekt hervorrufen, der aufgrund der höheren Absorptionsbande bei Fluoreszenzausleuchtung stärker ist.

Bei der FD von Tumoren macht man sich die Unterschiede der Fluoreszenz in Tumor- und Normalgewebe zunutze, die entweder durch unterschiedliche Verteilung der endogenen Farbstoffe (Autofluoreszenz) oder durch die tumorselektiven Eigenschaften von exogen applizierten Fluoreszenzfarbstoffen hervorgerufen werden. Abhängig von der Anregungswellenlänge kommen unterschiedliche Fluorophore im Gewebe vor. Die meisten endogenen Fluorophore sind mit der strukturellen Matrix des Gewebes verbunden oder in zelluläre Stoffwechselprozesse involviert und variieren bei den verschiedenen Gewebetypen (Richards-Kortum, Seivick-Muraca 1996). Die wichtigsten Gewebebestandteile stellen hierbei das Kollagen und Elastin dar, bei denen die Fluoreszenz das Ergebnis von Verbindungen zwischen Aminosäuren ist. Fluorophore, die in zelluläre Stoffwechselprozesse einbezogen sind, sind z.B. das reduzierte Nikotinamidadenosindinukleotid (NADH) und Flavine. Andere Fluorophore sind die aromatischen Aminosäuren (z.B. Tryptophan, Tyrosin, Phenylalanin) und verschiedene Porphyrine und Lipopigmente (z.B. Zeroide, Lipofuszin), die das Endprodukt des Lipidstoffwechsels darstellen. Außerdem kann die Rotfluoreszenz von Porphyrinen durch Bakterien bedingt sein, die sich auf bestimmten Strukturen, wie z.B. ulzerierenden Tumoren, befinden (Ghadially et al. 1963).

Die charakteristischen Eigenschaften von endogenen Fluorophoren müssten zur Interpretation und Optimierung von klinischen Studien berücksichtigt werden. Alle endogenen Fluorophore besitzen ein bestimmtes Anregungs- und Emissionsspektrum, das nach KOLLI et al. (1995a) zur Tumordetektion beitragen kann. Im Gewebe finden sich viele verschiedene endogene Fluorophore mit unterschiedlichen Konzentrationen; die endogenen Fluorophore sind außerdem nicht gleichmäßig im Gewebe verteilt und variieren deutlich in der Tiefe des Gewebes. Die unterschiedlichen Schichten von Hohlorganen (Mukosa, Submukosa, Muscularis) setzen sich aus unterschiedlichen endogenen Fluorophoren zusammen. Somit ist das an der Gewebeoberfläche gemessene Fluoreszenzspektrum anders als jenes der tieferen Schichten.

Die Erkennung von Tumorstadien oder Frühkarzinomen anhand der Autofluoreszenz ist abhängig von Veränderungen

- in der Konzentration und räumlichen Verteilung von einem oder mehreren Fluorophoren,
- des Gewebestoffwechsels (z.B. NADH fluoresziert nur in seiner reduzierten Form),
- des biochemischen bzw. biophysikalischen Gewebemilieus,
- der Gewebestruktur (z.B. der Dicke der Mukosa oder dem Fehlen von bestimmten Schichtstrukturen) und
- der wellenlängenabhängigen Abschwächung des Lichtes entsprechend der

Konzentration und Verteilung von nicht fluoreszierenden Chromophoren,  
insbesondere von Hämoglobin.

Die Intensität des in vivo gemessenen Fluoreszenzsignals wird entscheidend durch diese metabolischen und morphologischen Veränderungen beeinflusst und ist außerdem abhängig von der Anregungs- und Emissionswellenlänge. Die Fluoreszenz von aromatischen Aminosäuren der Gewebeproteine kann z.B. nur nach UV-Anregung beobachtet werden, während alle anderen Fluorophore mit sichtbarem Licht angeregt werden können. Bei Anregung mit blau-violetttem Licht ist der Farbeindruck der Autofluoreszenz in Abhängigkeit vom Beobachtungsfiter grün oder blau. Verschiedene Fluorochrome (Kollagen, Elastin, NADH, Flavin, Porphyrin) zeigen Intensitätsunterschiede der Fluoreszenz zwischen Tumor und Normalgewebe (für Porphyrine Anregungswellenlänge von 400 nm und Emissionswellenlänge von 630 / 690 nm).

Nach Anregung mit Licht einer Wellenlänge von  $\lambda=450$  nm (blau) verursachen Carcinoma in situ (Cis) und andere epitheliale Tumoren eine Abnahme der grünen Autofluoreszenz des Bindegewebes (Detektion bei  $\lambda=500-600$  nm). Die Ursache dafür ist eine vermehrte Abschwächung des Anregungs- und Fluoreszenzlichtes aufgrund verdickter Epithelschichten.

Im letzten halben Jahrhundert wurden zahlreiche unterschiedliche Methoden zur frühzeitigen und verbesserten Diagnostik von Karzinomen im Mundhöhlenbereich in der Literatur beschrieben. Im Jahre 1963 wurde erstmals Toluidin-Blau zur Markierung von Tumoren erwähnt (Richart 1963). EPSTEIN et al. (1992) führte eine Doppelfärbung von malignem Gewebe mit Toluidin-Blau und Lugol'scher Lösung durch. Toluidin-Blau ist ein metachromatischer Farbstoff, der intrazelluläre DNA bzw. RNA bindet und anfärbt. Die selektive Anfärbung von neoplastischem bzw. malignem Gewebe durch Toluidin-Blau beruht zum einen auf dem höheren Gehalt von Nukleinsäuren in malignem Gewebe, zum anderen auf einer lockeren oberflächlichen Zellschicht, was zu einer verstärkten Penetration des Farbstoffs in das betroffene Gewebe führt. Toluidin-Blau ist derzeit Gegenstand mehrerer Untersuchungen und wird für die Anwendung im Kopf-Hals-Bereich kontrovers diskutiert (Niebel und Chomet 1964, Portugal et al. 1996, Sabes et al. 1972). Vorteile scheinen sowohl in der Erkennung als auch in der Demarkierung von prämaligmen bzw. malignem Gewebe zu bestehen. In einer Studie von SABES et al. (1972) wurde jedoch ein hoher Prozentsatz von falsch positiven bzw. falsch negativen Befunden beschrieben. LEONARD und BECK (1971) verwendeten Hämatoporphyrinderivat zur Diagnostik von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich. Ein wesentlicher Nachteil dieser Methode ist die wochenlang anhaltende Photosensibilisierung der Haut und somit die soziale Isolierung der Patienten.

Bereits im Jahre 1924 entdeckte POLICARD (1924), dass sich exogen zugeführte Porphyrine in Tumoren erkrankter Tiere anreichern. Mitte des 20. Jahrhunderts ergaben sich weitere Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen malignen Erkrankungen und Veränderungen im Bereich der Porphyrin- bzw. Häm-Biosynthese. AULER et al. (1943) stellten eine erhöhte Porphyrinausscheidung im Urin von Menschen und Tieren mit Tumorerkrankungen fest. TIO und THOMPSON beschrieben porphyrieähnliche Krankheitsbilder bei Patienten mit malignen Lebertumoren (Tio et al. 1957, Thompson et al. 1970). In den folgenden Jahren wiesen andere Studien in Tumorgewebe einen im Vergleich zu Normalgewebe erhöhten Porphyringehalt nach (Rasetti 1963, Rubino 1966, Zawirska 1979).

Der beobachtete Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Tumoren und erhöhten Porphyrinspiegeln in den betroffenen Organismen bzw. die festgestellte Anreicherung von Porphyrinen in malignem Gewebe gab den Anstoß zu Studien zur photodynamischen Tumordiagnostik mit Hilfe der Porphyrinfluoreszenz. RASMUSSEN-TAXDAL (1955) untersuchten als erste die Fluoreszenz in Tumorgewebe nach intravenöser Gabe von Hämatoporphyrin. LIPSON et al. (1961) verglichen die Tumorselektivität von Hämatoporphyrinderivaten (HpD) und stellten fest, dass die diagnostische Wirksamkeit von HpD wesentlich größer ist als die von einem Hämatoporphyrin. Es folgten weitere Studien zur FD mit HpD (Lipson 1967, Gray 1967, Gomer 1979, Henderson 1980).

Es scheint, dass bis heute keines der oben genannten Verfahren Einzug in die klinische Routine gefunden hat. Gründe hierfür scheinen eine zu geringe Sensitivität, hohe Kosten für Geräte und ein zu hoher Personalaufwand zu sein. Des Weiteren macht die verfügbare geringe Patientenzahl eine objektive Einschätzung zur Wertigkeit der einzelnen Verfahren unmöglich.

Die Fluoreszenzmarkierung von Tumoren mit synthetischen Porphyrinen erwies sich als sehr selektiv – klinisch wurde sie bei der Tumorsuche in der Mundhöhle und Larynx, in der Trachea, im Bronchialbaum, in der Harnblase und in der Cervix uteri eingesetzt (Leonard 1971, Kato 1990, King 1982, Kelly 1976, Kyriazis 1973) – hatte aber als unerwünschte Nebenwirkung eine teilweise wochen- bis monatelang anhaltende Photosensibilisierung der gesamten Haut der Patienten zur Folge (Leonard 1971, Kato 1990, Kennedy 1990).

MALIK et al. (2000) stellten bei Experimenten mit kultivierten leukämischen Zellen erstmals eine gesteigerte Porphyrinsynthese nach exogener Gabe von 5-ALA, dem ersten Syntheseprodukt der Häm-Biosynthese, fest. Zu ähnlichen Beobachtungen führten andere Studien (Navone et al. 1990). Sie konnten nach 5-ALA-Applikation in Gewebekulturen, die von einem humanen Mammakarzinom gewonnen wurden, eine im Vergleich zum ebenfalls kultivierten normalen Drüsengewebe 20-fach

erhöhte Porphyrinkonzentration nachgewiesen werden. In weiteren Studien wurde festgestellt, dass es sich bei den nach exogener Gabe von 5-ALA in Tumorzellen vermehrt synthetisierten und intrazellulär akkumulierten Porphyrinen insbesondere um Protoporphyrin IX (PpIX), das direkte Vorgängermolekül vor Häm in der Hämbiosynthese, handelte (Pottier 1986, Kennedy 1990).

Der moderne Ansatz besteht in der Detektion maligner Tumoren auf Grundlage der durch exogen applizierte 5-ALA induzierten PpIX-Synthese und -akkumulation. PpIX besitzt bei Bestrahlung mit violett-blauem Licht (Absorptionsmaximum von PpIX 400 nm) die Fähigkeit, Fluoreszenzlicht im roten Spektralbereich zu emittieren (Emissionsmaxima von PpIX 635 und 700 nm) und macht so eine Fluoreszenzdiagnostik von Tumoren, Carcinoma in situ und dysplastischen Veränderungen möglich. Der entscheidende Unterschied zur PDD mit HpD liegt darin, dass nicht die fluoreszierende Substanz selbst, sondern ein Vorläufer zugeführt wird, der die endogene Synthese des Fluoreszenzmarkers in den Tumorzellen anregt.

Klinisch wurde die tumorspezifische Akkumulation von 5-ALA induziertem PpIX von KENNEDY et al. (1990) nach lokaler 5-ALA-Anwendung bei Patienten mit aktinischen Keratosen und Basaliomen nachgewiesen. Es zeigte sich, dass ein entscheidender Vorteil der 5-ALA-gestützten Fluoreszenzdiagnostik gegenüber der PDD auf der Basis von i.v. applizierten Porphyrinen darin besteht, dass die Photosensibilisierung wesentlich geringer ausgeprägt ist (Kennedy 1992). In den letzten Jahren fand die PDD auf der Grundlage von 5-ALA induziertem PpIX (topisch oder systemische Gabe von 5-ALA) in verschiedenen Fachdisziplinen Anwendung (Tabelle 21).



Tabelle 21: Fachdisziplinen mit der Anwendung der PDD

Fachgebiet	Diagnosen
<b>Dermatologie</b>	M. Bowen, kutane T-Zellymphome und Basaliome (Fritsch 1998, Lang 1995, Ninomiya 1999, Peng 1995)
<b>Gastroenterologie</b>	Barett-Ösophagus, kleine gastrointestinale Tumoren und dysplastische Veränderungen (Messmann 1998, Mayinger 1999, Orth 2000)
<b>Pulmonologie</b>	Bronchialkarzinome (Baumgartner 1996)
<b>Urologie</b>	Urothelkarzinome in Blase und Urethra (Holtl 2001, Kriegmair 1994, 1995, 1996)
<b>Neurochirurgie</b>	Glioblastome (Stummer 1998, 2000)
<b>Gynäkologie</b>	Zervikale Neoplasien, Endometrioseherde und Mammakarzinome (Hillemanns 2000, Ladner 2001, Malik 2000)
<b>Hals-Nasen-Ohrheilkunde und Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie</b>	Karzinome im Mund-Rachen-Raum sowie Larynxkarzinome und -papillome. (Betz 2000, Mehlmann 1999, Leunig 1996a-b, 2000a-b, Sommer 1995, Zenk 1999).

Die Frage, weshalb sich PpIX im Tumor selektiv anreichert, ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und konnte bisher nur in Teilaspekten geklärt werden. Als eine der wesentlichen Ursachen für die Selektivität bei der Fluoreszenzmarkierung von Hauttumoren (Basaliomen) wird die poröse Keratinschicht über den veränderten Hautbezirken diskutiert, wodurch das Eindringen und die interstitielle Verteilung von 5-ALA nach topischer Gabe erleichtert werden. Dies gilt auch für Tumoren im Mund-Rachen-Kehlkopf-Bereich mit zum Teil exophytischem Wachstumscharakter bzw. ulzerierendem Erscheinungsbild, bei denen die Diffusionsbarriere vermindert ist. Nach Aufnahme von 5-ALA in den Tumor ist der initiale Schritt in der 5-ALA-induzierten Synthese von PpIX die Penetration von 5-ALA durch die Plasmamembran. Eine erhöhte Anzahl und Aktivität von Kanalproteinen wird u.a. für die Aufnahme von 5-ALA in Tumorzellen als weiterer Mechanismus für die Tumorselektivität angenommen (Peng et al. 1992). Ein wichtiges Enzym im Rahmen der Häm-Biosynthese stellt Porphobilinogen-Desaminase dar, welches die Bildung von Uroporphyrinogen aus Porphobilinogen katalysiert.

Bei in vitro Experimenten ließ sich in malignen Geweben eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms nachweisen (Schönfeld et al. 1988, Kondo et al. 1993). Bereits 1966 wurden von RUBINO und RASETTI (1966) eine verminderte Aktivität des Enzyms Ferrochelatase in tierexperimentell-induziertem Tumor nachgewiesen. Dies wird bis heute als eine weitere mögliche Hauptursache für die tumorselektive Anreicherung von PpIX angesehen. In der Häm-Biosynthese wird durch dieses Enzym der Schritt von PpIX unter Einbau von Eisen zu Häm katalysiert. Möglicherweise führt eine zu niedrige Eisenverfügbarkeit in Tumoren zu einer verminderten Aktivität des Enzyms und somit zu der selektiven Anreicherung von PpIX (Iinuma et al. 1994, Kriegmair et al. 1999). Des Weiteren wurde nachgewiesen, dass die Zelldichte die Menge des akkumulierten PpIX in vitro beeinflusst (Steinbach et al. 1995). Grundsätzlich führt eine Zunahme der Zelldichte zu einer Vermehrung des pH-Wertes im Kulturmedium. Dadurch wird z.B. die Porphyrinakkumulation in *Hämophilus parainfluenza* beeinflusst (Luppa et al. 1993). Ein statistischer Zusammenhang zwischen der erhöhten Proliferationsrate von Karzinomzellen und der PpIX-Fluoreszenz wurde von der Arbeitsgruppe Iinuma et al. 1994 beschrieben. Jedoch basieren diese Ergebnisse auf Untersuchungen von im Tierexperiment induzierten Tumoren, die ein rasches Wachstum zeigen. Klinisch zeigen sich Tumoren meist sehr heterogen bezüglich des Zelltyps und weisen Abschnitte mit sehr unterschiedlichem Oxygenierungsgrad und Proliferationsraten auf. Daher können diese in vitro Untersuchungen nur bedingt auf komplexe in vivo Situation übertragen werden.

5-ALA liegt frei gelöst im Plasma vor. Etwa ein Drittel von 5-ALA wird sowohl in der Ratte als auch beim Menschen in den ersten Stunden nach systematischer Applikation zusammen mit messbaren Mengen von Porphobilinogen im Urin ausgeschieden. Derzeit stehen verschiedene Techniken zur Messung von 5-ALA im Plasma, Serum und Körperflüssigkeiten zur Verfügung. Laut KONGSHAUG wird PpIX an Albumin und Lipoproteine gebunden und nachfolgend durch zelluläre Strukturen entweder über Endozytose oder passive Membrandiffusion aufgenommen, wobei Uroporphyrin und Coproporphyrin ungebunden vorliegen und in das interstitielle Gewebe diffundieren. Im Lebergewebe wird PpIX aus Porphyrinogen synthetisiert und in die Blutzirkulation freigesetzt (Kongshaug et al. 1993). Über die Galle kann PpIX ausgeschieden werden. Eine erhebliche Menge des ausgeschiedenen PpIX unterliegt dem enterohepatischen Kreislauf, so dass die Menge des in Faeces eliminierten PpIX sehr gering ist. Die in Faeces vorkommenden Porphyrine setzen sich vorwiegend aus PpIX zusammen und können noch über einen Zeitraum von zwei Tagen nach systematischer 5-ALA-Applikation nachgewiesen werden. PpIX kann in der Leber in Chlorophyll und andere Zwischenprodukte (z.B. Pheophorbide) metabolisiert werden, bevor es in die Galle ausgeschieden wird. Uroporphyrin und Coproporphyrin liegen ungebunden im Plasma vor und werden vorzugsweise mit dem Urin ausgeschieden (Egger et al. 1996).

Zur Untersuchung der Pharmakokinetik von 5-ALA induziertem PpIX (systemische Applikation von 20 bis 1000 mg/kg) wurde eine große Zahl tierexperimenteller Studien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl die orale als auch die intravenöse 5-ALA-Verabreichung eine ähnliche Kinetik der Bioverfügbarkeit von 5-ALA induziertem PpIX im Gewebe ergeben, obwohl eine höhere orale Dosierung notwendig ist, um die gleichen Mengen von Porphyrin wie nach intravenöser Gabe zu erreichen. Maximale Konzentration von 5-ALA induziertem PpIX wurden bei verschiedenen Tumormodellen nach BEDWELL et al. (1992) sowohl 3 bis 6 Stunden nach Applikation als auch laut PENG et al. (1992) und ORENSTEIN et al. (1996) bereits eine Stunde nach Applikation gemessen. Diese Ergebnisse zeigten, dass die Pharmakokinetik von 5-ALA induziertem PpIX sowohl von der Tumorzelle als auch von der verwendeten Konzentration abhängig ist. Im Gegensatz zu den synthetischen Porphyrinen mit einer intrakorporalen Speicherung photoaktiver Substanzen über Wochen wurde eine nahezu vollständige Clearance des 5-ALA induzierten PpIX innerhalb von 24 bis 48 Stunden beobachtet (Dougherty et al. 1990, Peng et al. 1992, Fukuda et al. 1992, Kennedy et al. 1992, Sroka et al. 1996, Rick et al. 1997).

In der Literatur gibt es Angaben zu verschiedenen Applikationsformen von 5-ALA. Im Wesentlichen ist dies die topische und systemische Applikation. Im Gegensatz zu vielen anderen Photosensibilisatoren lässt sich 5-ALA zur endogenen Synthese von PpIX sowohl systemisch per os als auch topisch einsetzen. Aufgrund der niedrigen Fluoreszenzquantenausbeute muss nach systemischer Gabe von Hämatoporphyrinderivate (Photofrin®) zur Auswertung bzw. Darstellung der Fluoreszenz im Tumorgewebe ein hoher apparativer Aufwand betrieben werden (intensivierte Kameras, Bildverarbeitung). Des Weiteren weist nach LANDTHALER et al. (1993) die zur Diagnostik und seit den 80er Jahren verstärkt auch zur Therapie von Tumoren angewandte Methode mit systemisch applizierten fluoreszierenden Photosensibilisatoren als wesentlichen Nachteil eine für Wochen anhaltende Photosensibilisierung der gesamten Haut auf. Dagegen kommt es bei Tumorpatienten bzw. gesunden Probanden nach Einzelgabe oder wiederholter topischer Applikation von exogenem 5-ALA zu keinerlei Porphyriesymptomen oder neurologischen Ausfällen im Gegensatz zur systemischen Applikation, die neben einer vorübergehenden Hautsensibilisierung und Anstieg der Leberwerte in Einzelfällen Übelkeit und Erbrechen hervorrufen kann (Rick et al. 1997, Webber et al. 1997a, Herman et al. 1998, Vaidyanathan et al. 2000).

In der vorliegenden Studie wurde die topische Applikation im Bereich der Mundhöhle (5-ALA Mundspülung) untersucht und beurteilt. Dieses Verfahren hat gegenüber der oralen Gabe, der Instillation, der Inhalation und Salbengabe etliche Vorteile für den behandelnden Arzt wie für den Patienten. Bei unseren Untersuchungen wurde das angewandte Verfahren von allen Patienten gut toleriert. Dies steht in Übereinstimmung mit anderen Studien aus anderen Fachbereichen (Kriegmair et

al. 1999, Hillmanns et al. 2000, Stummer et al. 1998, Messmann et al. 2000, Huber et al. 1999). Die lokale Gabe von 5-ALA ist nach heutigem Erkenntnisstand ohne nennenswerte Nebenwirkungen für den Patienten (Leunig et al. 1996). Nur zwei Patienten berichteten nach topischer 5-ALA Applikation während der Fluoreszenzdiagnostik über leichtes Brennen im Bereich der untersuchten Mundschleimhäute. Eine örtliche Betäubung war nicht notwendig. HERZOG et al. (1992) beschrieben eine leichte, nicht schmerzhaft Wärmeempfindung der Patienten während der Fluoreszenzuntersuchung. Dies ist sicher auf eine ablaufende zytotoxische Reaktion, wie sie bei der PD genutzt wird, zurückzuführen. In unserem Patientenkollektiv mussten keine Untersuchungen wegen Komplikationen bzw. Beschwerden der Patienten vorzeitig abgebrochen werden. Nach 5-ALA Mundspülung konnte spektral im Bereich der Haut bei keinem Patienten eine PpIX-Fluoreszenz nachgewiesen werden. Entgegen den Angaben in der Literatur über eine Korrelation zwischen exogener 5-ALA Applikation und einer Photosensibilisierung der Haut (Peng et al. 1997) konnten wir bei keinem der untersuchten Patienten eine phototoxische Reaktion der Haut nach exogener 5-ALA Applikation bei den von uns verwendeten Konzentrationen beobachten.

Bei der oralen Gabe hat der Patient starke Einschränkungen, da er sich auf Grund der Hautsensibilisierung für 2 Tage in abgedunkelten Räumen aufhalten und sich darüber hinaus vor Kunstlicht schützen sollte. Gegenüber der Installation (Kriegmair et al. 1996) liegt der Vorteil der Spülung in der einfachen Handhabung. Bei einer Inhalation (Baumgartner et al. 1996, Huber et al. 1995) muss der Patient die Lösung ca. 30 bis 40 Minuten einatmen, wobei die Behandlungszeit bei einer Spülung nur 20 Minuten beträgt. Die auch in dieser Untersuchung verwendete Applikationsform der Mundspülung mit einer 0,4%igen 5-ALA-Lösung wurde bereits in früheren Untersuchungen beschrieben (Leunig 1996, 2000). Dabei stellte sich hinsichtlich des Kontrastes zwischen Tumor und Normalgewebe eine Inkubationszeit von vier Stunden als optimal heraus. Bei einer Salbengabe beträgt die Einwirkzeit ca. 6 Stunden. Der Hautbefund wird dabei mit einem lichtundurchlässigen Verband abgedeckt, der erst kurz vor der Untersuchung entfernt wird, was zu erheblichen Beeinträchtigungen des Patienten führt.

In den tierexperimentellen Untersuchungen von LIPSON et al. (1961) wurde die Aufnahme von Photosensibilisatoren im Tumor mit dem darunter liegenden Muskelgewebe bzw. der darüber liegenden Haut verglichen. Dabei zeigte das Muskelgewebe eine sehr geringe Substanzaufnahme, sodass die Tumorselektivität sehr leicht zu hoch angegeben wird. Dies ist vermutlich auch verantwortlich für die vermeintlich hohe Tumorselektivität von Hämatoporphyrinderivat. Dabei wurden Unterschiede in der Aufnahme von Photosensibilisatoren von 2 bis 10:1 oder höher zwischen Tumor und umliegendem Normalgewebe ermittelt. Des Weiteren macht die geringe Größe von Tumoren im Tiermodell, insbesondere die geringe Dicke von Hohlorganen im Vergleich zum Menschen, quantitative Vorhersagen für die klinische Situation nur bedingt möglich. Zu tierexperimentellen Fragestellungen

bezüglich der 5-ALA-induzierten PpIX-Fluoreszenz im Kopf-Hals-Bereich existieren bereits zahlreiche Voruntersuchungen (Peng et al. 1997). Nach eingehender Analyse dieser Modelle wurden im Rahmen unserer klinisch orientierten Studie keine tierexperimentellen Untersuchungen durchgeführt.

Die Frage der Dosierung von 5-ALA und des günstigen Zeitpunktes zur Fluoreszenzuntersuchung wurden im Rahmen von Vorversuchen ermittelt. Die Frage nach der evtl. Toxizität konnte bereits negativ hinsichtlich Nebenwirkungen und Phototoxizität beantwortet werden (Kriegmair et al. 1996). Basierend auf den Beobachtungen von SOMMER et al. (1995), in dessen Untersuchungen eine ausgeprägte Hintergrundfluoreszenz normaler Schleimhaut nach Applikation einer 5%-igen 5-ALA Spüllösung auftrat, konnte in unseren Untersuchungen durch eine Verminderung der 5-ALA Konzentration eine deutlich bessere Kontrastierung von Tumorgewebe und Normalgewebe anhand der PpIX-Fluoreszenz in der Mundhöhle (Betz et al. 1999) erreicht werden. Dazu erfolgte die Untersuchung initial von absteigenden 5-ALA Dosierungen bei Einzelpatienten. Schließlich wurde im Bereich der Mundhöhle eine Kombination aus einer 4%-igen 5-ALA Lösung und einer 20-minütigen Spülphase gewählt. Bei unseren Untersuchungen wurde durch diese Auswahl eine gute Kontrastierung von Tumorgewebe erzielt.

Mit blau-violetttem Licht (380-440 nm) wurde das in der Mundhöhle des Patienten gebildete Protoporphyrin IX (PpIX) zur Fluoreszenz angeregt. In der vorliegenden Untersuchung benutzten wir eine Standardausrüstung für die Aufnahmen von unseren Patienten. Für die makroskopische Fluoreszenzanalyse werden drei Komponenten benötigt. Zum einen die Anregungslichtquelle, zum anderen eine Kamera und drittes ein Filter, der das blau-violette Anregungslicht abschwächt, sodass die rot fluoreszierenden Areale auf einem blauen bzw. blaugrünen Hintergrund deutlich sichtbar sind. Die Positionierung des Anregungslichtes kann entweder mit Hilfe eines Lichtkabels oder Endoskops durchgeführt werden. Zur Dokumentation und Identifizierung wurden von den entsprechenden Bereichen der Mundhöhle Aufnahmen angefertigt. Hierzu diente eine hochauflösende Farb-CCD-Videokamera mit integriertem Filtersystem. Anschließend wurden zur Kontrolle Weißlichtaufnahmen der fluoreszierenden Areale ergänzt. Danach wurden die Bildausschnitte der Regio of interest mittels Framegrapper digitalisiert und der Datenbank patientenbezogen zugeordnet.

In zahlreichen anderen Fachbereichen, in denen die FD mit 5-ALA-induziertem PpIX durchgeführt wird, werden identische Filtersysteme verwendet. Erstmals beschrieben wurde dies in der Urologie (Kriegmair et al. 1994), später auch in der Pneumologie (Huber et al. 1995, Baumgartner et al. 1996), in der Gastroenterologie (Mlkvy et al. 1995, Messmann et al. 1998), in der Neurochirurgie (Stummer et al. 1998) und in der Gynäkologie (Hillmanns et al. 2000). Der wesentliche Fortschritt der dargestellten Fluoreszenztumorlokalisation besteht in der verbesserten Farbkontrastgebung durch die PpIX-

Fluoreszenz. Die bisherigen Erfahrungen zeigten, dass die Substanzdosierung und Applikationsformen der 5-ALA-Gabe den organspezifischen Anforderungen angepasst werden mussten.

Insgesamt wurden in unserer Studie 278 maligne Tumoren der Mundhöhle, 39 orale Leukoplakie und Lichen ruber planus, 19 benigne Tumore und 18 entzündliche Schleimhauterkrankungen der Mundhöhle festgestellt. Bei 25 Patienten war retrospektiv keine eindeutige Klassifizierung möglich. Hierbei handelte es sich um Patienten, die nach der Fluoreszenzuntersuchung unser Klinikum nicht wieder aufsuchten. Bei einer Reihe von Patienten fanden sich fluoreszierende Areale, deren Untersuchung keinen Hinweis auf eine maligne Transformation des Gewebes lieferte (falsch positive Befunde). Insgesamt wurden 221 Biopsien von Patienten ausgewertet. Von 221 in die Auswertung einbezogenen Fällen konnten bei 216 die klinische Diagnose bestätigt werden. Alle Karzinome zeigten eine spezifische Fluoreszenz ( $\lambda=636$  nm). Histologisch gesicherte maligne Gewebeveränderungen mit therapeutischer Konsequenz bzw. maligne Befunde wurden in keinem Falle übersehen. Neben den Patienten mit einem Karzinom bzw. einer hochgradigen Epitheldysplasie konnten anhand der PpIX-Fluoreszenz bei zwei untersuchten Patienten eine Papillomatose im Mundhöhlenbereich diagnostiziert werden.

Die Grenzen des Verfahrens werden zudem definiert durch die rein oberflächliche Anfärbung von Tumorgewebe nach topischer Applikation, das schnelle Ausbleichen der PpIX-Fluoreszenz sowie durch falsch positive Befunde. Die Ursachen dafür sind:

- Veränderung der Mundhöhlenökologie durch Nichteinhaltung der Nahrungskarenz zwischen Mundspülung und Fluoreszenzmessung,
- bakterienverursachte Fluoreszenz besonders am Gingivasaum oder Zungenrücken sowie regionäre Lymphknoten und
- Schleimhautschädigung nach therapeutischer Radiatio.

Bereits eine geringe Menge Glukose kann die Bildung von PpIX in Zellen beeinflussen. Damit ist eine verstärkte Bildung von PpIX in der normalen Mundschleimhaut und auch in Mikroorganismen der Mundflora möglich. Die Untersuchungen von DOSS et al. (1973) zeigten, dass sich durch ALA-Inkubation bei verschiedenen Bakterienstämmen die Bildung von unterschiedlichen Porphyrinen beobachten lässt. Auch ohne ALA-Inkubation konnte so eine von Bakterien verursachte Porphyrinfluoreszenz in der Mundhöhle nachgewiesen werden. Zur Reduzierung des Einflusses der Bakterienflora empfehlen wir eine professionelle Reinigung der Mundflora ca. eine Stunde vor der ALA-Applikation. Um die Potenz der Methode auszunutzen, ist es deshalb unerlässlich, Mikroorganismen, die zu einer parasitären PpIX-Fluoreszenz beitragen, drastisch zu reduzieren. Das

beschriebene Vorgehen konnte eine Reduktion der PpIX-Bakterienfluoreszenz bewirken, sodass eine inhomogene Tumorstruktur erkennbar wurde. Deutlich markierte aktive Wachstumszonen (stark PpIX-akkumulierende Bezirke) wechselten mit Nekrosezonen (geringer oder fehlender PpIX-Fluoreszenz) ab. Bei im orofazialen System therapeutisch bestrahlten Patienten beobachteten wir für die gesamte im Strahlenfeld liegende Schleimhaut eine kräftige, gleichmäßige Fluoreszenz mit einem typischen PpIX-Fluoreszenzspektrum. Eine Differenzierung zum Tumorgewebe war in diesem Bereich nicht möglich. Dieses Phänomen ließ sich unabhängig von dem zeitlichen Abstand zur Messung beobachten. Nach BAERT et al. (1993) sind die durch die Bestrahlung geschädigten Gewebes grundlegenden Veränderungen offensichtlich für eine verstärkte PpIX-Fluoreszenz verantwortlich.

Um eine intelligente Differenzierung der Fluoreszenzbefunde zu ermöglichen, zum Ausschluss falsch positiver Befunde und zur Unterstützung der Diagnosefindung wird im Rahmen einer Zusammenarbeit mit dem Institut für Materialwissenschaften und Werkstofftechnologie der FSU Jena (PD Dr. habil. W. Fried) an einem neuronalen Netz basierend auf intelligente Software gearbeitet. Das Ziel dabei ist, die geringe Sensibilität der FD möglichst der Sensitivität der FD anzunähern. Die Entwicklung eines neuronalen Netzsystems gibt die Hoffnung, mit der Anwendung dieser Software einen bedeutenden Fortschritt in der Früherkennung von bösartigen Tumoren in Körperhöhlen zu erreichen.

Daten zur untersucherabhängigen Variabilität in Abhängigkeit vom jeweiligen Erfahrungsgrad gibt es jedoch wenige. Es wurde berichtet, dass endoskopische Ultraschalluntersuchungen (EUS) eine hohe Treffsicherheit im Staging von Tumoren des oberen Gastrointestinaltrakts haben. Es wurde vom MEINING et al. (2003) anhand gut dokumentierter Videobänder von EUS-Untersuchungen eine Studie an 108 Patienten mit Zustand nach reseziertem Ösophagus- (n=55) oder Magenkarzinom (n=53) durchgeführt. Die Befundung erfolgte durch 5 erfahrene EUS-Untersucher (2 mit über 100 und 3 mit über 300 durchgeführten Untersuchungen), welche alle verblindet gegenüber anamnestischen und klinischen Daten der jeweiligen Patienten waren. Neben der Erfassung der jeweiligen Treffsicherheit strebte die Studie das Ziel an, anhand einer Kappastatistik das Maß der Variabilität der einzelnen Untersucher herauszufinden.

Unter den beschriebenen Bedingungen war die Treffsicherheit der Endosonographie niedriger als unter den üblichen Routinebedingungen. Die mittlere Treffsicherheit im T-Staging war 41,1% +/- 5,1 (Magen) und 67,7% +/- 5,4 (Ösophagus). Kappawerte über 0,4 (entsprechend einer akzeptablen Übereinstimmung unter den 5 Untersuchern) konnten nur für das Staging von nicht invasiven Karzinomen der N0- und T1-Kategorie ermittelt werden. Unterschiede bezüglich des Erfahrungsgrades der jeweiligen Untersucher wurden nicht festgestellt. Es lässt sich gefolgert werden, dass das verblindete endosonographische Staging auch durch erfahrene Untersucher mit einer niedrigen

Treffericherheit und gleichzeitig mit einer hohen Schwankungsbreite einhergeht.

Bei unserer Auswertung war die Sensitivität bei allen Untersuchern annähernd gleich mit Ausnahme vom Untersucher 3, der bei 74% die richtige Diagnose gestellt hatte, gefolgt vom Untersucher 4 mit 72%. Die Spezifität dagegen war bei dem Untersucher 4 mit einem Wert von 0,8750 am besten. Der Untersucher 1 schneidet mit 36% richtig positiven Befunden am schlechtesten ab, gefolgt vom Untersucher 2 mit 32%. Wenn man die Kategorie „keine Angabe“ eigenständig lässt, ergibt sich zwischen Untersucher 2 und 3 Signifikanz. Im Rahmen der Bewertung der diagnostischen Wertigkeit von 5-ALA-induzierter PpIX Fluoreszenz wurde ein Vergleich der subjektiven Erkennung und Abgrenzbarkeit von Tumoren nach 5-ALA Applikation mit Weißlicht und PpIX Fluoreszenz durchgeführt. Zusätzlich wurden die subjektiven Befunde durch Entnahme von Gewebeproben objektiviert. Zusammenfassend ergab die Auswertung der Biopsien zur Objektivierung der subjektiv erhobenen diagnostischen Qualität, dass die PpIX Fluoreszenzuntersuchung die Weißlichtuntersuchung überlegen war.

KLUFTINGER et al. (1992) berichtete von der Detektion von PE-Ca und präkarzinomatösen Läsionen durch Darstellung der gewebeeigenen Autofluoreszenz in einem Backentaschenmodell des Hamsters. Durch Berechnung eines Stellenwertes für das Verhältnis von roter zu grüner Fluoreszenz konnte bei 32 Tumoren mit einer Sensitivität von 100% und einer Sensibilität von 80% die Diagnose eines malignen Tumors herbeigeführt werden, was auf eine selektive Porphyrinakkumulation und verminderte Autofluoreszenz im Tumorgewebe zurückgeführt wurde. Eine zusätzliche Rotfluoreszenz, die durch endogene Porphyrine bedingt war, hatte ihre Ursachen in bakteriellen Belägen im Bereich der Zahnhäse und der Zungenoberfläche. Diese rötlich fluoreszierenden Auflagen konnten ohne Verletzung des Gewebes abgewischt werden. Bereits RONCHESE et al. (1954a), RONCHESE (1954b) sowie GHADIALLY et NEISH (1960b) und GHADIALLY et al. (1963) beschrieben, dass dies auf die Porphyrinsynthese von Mikroorganismen zurückzuführen war.

In der Literatur wird die Diagnostik der endogenen Porphyrinsynthese im Tumor ohne vorherige Gabe von 5-ALA kontrovers diskutiert. Die Arbeitsgruppe um HARRIS und WERKHAVEN (1987) bezeichnete die endogenen Porphyrine als einen unsicheren Indikator für das Vorliegen eines Tumors. Die Arbeitsgruppe um ONIZAWA et al. (1996) berichtete über den erfolgreichen Einsatz der Fluoreszenzphotographie im Rahmen einer verbesserten Tumordiagnostik von Karzinomen der Mundhöhle. Die Autoren konnten bei 14 von 16 Fällen über eine positive Rotfluoreszenz im Tumorgewebe berichten. In einer weiteren Studie dieser Arbeitsgruppe (Onizawa et al. 1999) wurde über den erfolgreichen Einsatz der Fluoreszenzphotographie in einer Gruppe von 130 Patienten berichtet. Dabei berührte die Diagnostik auf die alleinige Erkennung von Tumorgewebe anhand der Fluoreszenzphotographie.



Eine weitere Lokalisation der endogenen PpIX-Fluoreszenz ist im Bereich des Zungenrückens. Dies konnte bei allen Patienten beobachtet werden. Jedoch stellen die Karzinome des Zungenrückens einen vergleichsweise geringen Anteil (2%) von allen Zungenkarzinomen dar (Hölzel et al. 1996). Zusammenfassend empfahlen KASTENBAUER et al. (2000) die endogene PpIX-Fluoreszenz nicht für eine verbesserte Tumorerkennung, da sich die rotfluoreszierenden Anteile im Bereich des Tumorgewebes sehr inhomogen verteilen und somit dann eine exakte Abgrenzung der Tumorgrenzen nicht möglich ist.

Nach Applikation von 5-ALA (Mundspülung) konnte in Abhängigkeit von der Filterkombination die Autofluoreszenz des Normalgewebes in grün bzw. blau und zusätzlich die 5-ALA-induzierte PpIX-Fluoreszenz von Karzinomen der Mundhöhle beobachtet werden. Falsch positive Befunde mit dem Nachweis von PpIX-Fluoreszenz nach 5-ALA Applikation (Mundspülung) zeigten sich im Bereich des Zungenrückens sowie bei Belägen von Zahnhälsen. In der Literatur (Zenk et al. 1999) wurden die falsch positiven Befunde als Limitierung für das Verfahren gesehen. Bei Patienten mit schlechter Mundhygiene sowie bei Patienten, die nach der 5-ALA Applikation Nahrung zu sich genommen hatten, wurden auch falsch positive Befunde erhoben. In entzündetem bzw. bestrahltem Gewebe ist ebenfalls eine ausgeprägte und unspezifische Rotfluoreszenz nach 5-ALA Applikation nachweisbar. Die Ursache hierfür liegt in der strahleninduzierten Mukositis (Zenk et al. 1999). Dies stellt aus unserer Sicht eine Einschränkung des Verfahrens zur Tumordiagnostik nach Strahlentherapie in der Mundhöhle dar.

Die optimalen Ergebnisse zur Tumordiagnostik mit PpIX-Fluoreszenz wurden in unserem Patientengut in den ersten 5 Minuten der Untersuchung erzielt, da anschließend das sog. „Photobleaching“ eine Verminderung der PpIX-Fluoreszenz induziert. Bereits nach 10 Minuten war die subjektiv sichtbare Rotfluoreszenz aufgrund des Ausbleicheffektes annähernd verschwunden, sodass ein ausreichender Kontrast zwischen Tumor und umliegendem Normalgewebe nicht mehr nachweisbar war. Die Zeitspanne reicht allerdings durchaus aus, um eine suffiziente Fluoreszenzdiagnostik im Bereich der Mundhöhle durchzuführen. Die PpIX-Fluoreszenzdiagnostik weist im Vergleich zur Weißlichtuntersuchung den größten Vorteil in der verbesserten Diagnostik von Dysplasien und Carcinome in situ-Herden auf.

Die PpIX-FD ergab einen klinischen Vorteil in Form eines behandlungsbedürftigen Zusatzbefundes (Zweitkarzinom, Tumorausläufer) oder einer verbesserten subjektiven Tumorabgrenzung bei Patienten nach 5-ALA Mundspülung. Die Tatsache, dass sowohl Zweitkarzinome als auch nicht unter Weißlicht sichtbare Tumorausläufer erkannt werden konnten, lässt hoffen, dass eine Verminderung der Rezidivrate (Loree und Strong 1990, Jacobs et al. 1993, Bradford et al. 1996, Jones et al. 1996b) und

damit eine Verbesserung der Überlebensraten für diese Patientengruppen möglich ist.

Die von uns ermittelte Konzentration wurde bereits von anderen Gruppenerfolgreich zur Detektion von Tumoren im Bereich der Mundhöhle, des Oropharynx und Kehlkopfes eingesetzt (Zenk et al. 1999, Lippert et al. 2000). In der Studie von ZENK et al. (1999) wurden 53 von 56 (95%) Tumoren mittels der 5-ALA-induzierten PpIX-Fluoreszenz korrekt diagnostiziert. Drei falsch negative Befunde wurden bei größeren Karzinomen mit Nekrosen beobachtet, welche nach Angaben der Autoren die 5-ALA Penetration bzw. eine PpIX-Synthese verhindert. In dieser Studie konnte bei 3 von 56 Patienten (5,4%) zudem ein Zweitkarzinom nur anhand der PpIX-Fluoreszenz erkannt werden. Falsch positive Befunde wurden auf dem Zungenrücken, den Zahnhälsen sowie bei vorbestrahltem Gewebe erhoben. Eine mikrobiologische Analyse der für die falsch positiven Befunde verantwortlichen Bakterien ergab als dominierende Stämme *Prevotella oralis*, *Porphyromonas gingivalis* und *Staphylokokkus aureus* (Zenk et al. 1999). Die Autoren empfahlen deshalb, die Bakterienbeläge mechanisch vom Tumor sowie den Zahnhälsen zu entfernen, um die Zahl falsch positiver Befunde zu minimieren. Eine leichte Blutung im Bereich des Tumors sollte jedoch vermieden werden, weil diese wiederum die FD beeinträchtigen kann.

LIPPERT et al. (2000) konnten bei Untersuchungen über zusätzliche Befunde wie hochgradige Epitheldysplasien oder Carcinoma in situ-Herde sowie eine verbesserte Abgrenzung von Tumorgewebe mit der PpIX-Fluoreszenzuntersuchung im Vergleich zur Weißlichtuntersuchung berichten. Die Autoren berichten über die Variationen im Fluoreszenzkontrast zwischen Tumor- und Normalgewebe, Ausbleicheffekte sowie den Einfluss von endogener Porphyrinproduktion durch Bakterien auf die FD. Bei unseren Beobachtungen war die Variation bzw. Unregelmäßigkeit im Fluoreszenzkontrast am ehesten durch strukturelle Zusammensetzung von Tumoroberfläche bzw. Tumorgroße bedingt. Durch kurz andauernde Fluoreszenzbildgebung konnte das Problem des Ausbleicheffektes vermieden werden. Zusammenfassend kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse die FD nach topischer 5-ALA Applikation als ein ergänzendes Verfahren zur Weißlichtuntersuchung empfohlen werden.

Die einzigen Untersuchungen von anderen Arbeitsgruppen zum Einsatz der Kombination aus Autofluoreszenz- und PpIX-Fluoreszenzspektroskopie im Mundhöhlenbereich wurde von SVANBERG und WANG (1995), SVANBERG et al. (1998) und WANG et al. (1999) durchgeführt. In diesen Studien wurde die Fluoreszenzspektroskopie nach systemischer Gabe (per os) von 5 bis 15 mg 5-ALA pro kg Körpergewicht spektral und bildgebend im Normalgewebe, Tumorfrühstadien und Tumorgewebe 6-8 Stunden nach 5-ALA Applikation untersucht. Nach Anregung mit 405nm konnte durch Bildung eines Verhältnisses der PpIX-Fluoreszenzintensität bei 635nm und der Autofluoreszenz bei 490nm eine gute Differenzierung zwischen normalem Gewebe

und Tumorgewebe erzielt werden. Die Werte des Fluoreszenzkontrastes zwischen Tumor- und Normalgewebe lagen im Bereich 5 bis 10:1. Die Bewertung des klinischen Stellenwertes der PpIX-FD aus der Kombination von Autofluoreszenz und PpIX-Fluoreszenz, sowie der jeweiligen Einzelkomponenten für eine verbesserte Identifizierung von Karzinomen im Mundhöhlenbereich erfolgte in unterschiedlichen Schritten.

Im Vordergrund stand zunächst die Fluoreszenzbildgebung. Eine alleinige Darstellung der PpIX-Fluoreszenz konnte nicht beurteilt werden, da der experimentelle Aufbau die Gewebeautofluoreszenz nicht herausfiltert. Im Vergleich der kombinierten FD (Kombination aus Autofluoreszenz und PpIX-Fluoreszenz) mit der Weißlichtuntersuchung erwies sich die kombinierte FD vorteilhaft gegenüber der Weißlichtuntersuchung hinsichtlich der Identifizierung der Tumoren an sich und deren Grenzen. Die Auswertung von Gewebeproben bereicherte die Untersuchungen um einen objektiveren Aspekt als die reine Fluoreszenzbildgebung. Die kombinierte FD erwies sich als besser geeignet für eine richtige Identifizierung von Karzinomen als die Weißlichtuntersuchung. Hinsichtlich eines möglichen klinischen Vorteils durch die Nutzung der FD zusätzlich zur Weißlichtuntersuchung könnten die beschriebenen seltenen, aber wichtigen Entdeckungen sekundärer Karzinome, die subjektiv verbesserte Tumordarstellung bzw. die Möglichkeit zur Markierung von schlecht oder nicht sichtbaren Tumorausläufern zu niedrigeren Rezidivraten führen.

Eine zusätzliche Beobachtung im Rahmen der 5-ALA-induzierten PpIX-FD war, dass sich auch Papillome vom umliegenden Normalgewebe besser abgrenzen ließen. Papillome im Mundhöhlenbereich sind normalerweise an ihrer typischen morphologischen Struktur zu erkennen, jedoch können kleinere Satellitentumore übersehen werden.

Nichteinsetzbar ist das Verfahren bei Tumorpatienten nach erfolgter Radiatio, da es hier aufgrund einer radiogen bedingten Mukositis zu einer sehr ausgeprägten unspezifischen falsch positiven PpIX-Fluoreszenz der gesamten bestrahlten Schleimhaut kommt. Der Zeitpunkt der Bestrahlung scheint keinen Einfluss auf dieses Phänomen zu haben. Die Grenzen des Verfahrens werden zudem definiert durch die rein oberflächliche Anfärbung von Tumorgewebe nach topischer Applikation, das schnelle Ausbleichen der PpIX-Fluoreszenz sowie durch falsch positive Befunde.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass Karzinome im Mundhöhlenbereich PpIX akkumulieren. Die hiervon ausgehende Rotfluoreszenz ist mit dem bloßen Auge erkennbar. Dies stellt einen Vorteil gegenüber anderen Verfahren, z.B. mit synthetischen Porphyrinen, Tetrazyklinen oder der gewebeeigenen Autofluoreszenz, dar. Des Weiteren kann auf komplizierte Bildverarbeitungssysteme verzichtet werden, die Kosten können durch Verzicht auf umfangreiche Apparaturen niedrig gehalten werden.

Mittels Anwendung der beschriebenen FD als ein zusätzliches Verfahren zur Weißlichtuntersuchung könnte durch eine verbesserte Erkennung von nicht sichtbaren Primärtumoren, Zweitkarzinomen, submukösen Tumorausläufern bzw. Tumorrandbereichen eine Reduktion der Operationszeiten erreicht, Kosten eingespart und möglicherweise sekundär durch Senkung der Rezidivraten die Prognose für die Patienten verbessert werden. Dies nachzuweisen ist das Ziel zukünftiger Forschungsanstrengungen.

Die Beurteilung maligner Veränderungen aufgrund der im Vergleich zum Normalgewebe unterschiedlichen Fluoreszenz bietet gegenüber anderen Verfahren eine Reihe von Vorteilen. Die Fluoreszenzdiagnostik ist im Gegensatz zu einer PE nicht invasiv und entsprechend dem Patienten zumutbarer. Das Ergebnis der Fluoreszenzdiagnostik liegt sofort vor und kann eventuell intraoperativ umgesetzt werden. Allerdings ist der Kontrast zwischen Tumor und Normalgewebe für eine bildgebende Markierung maligner Veränderungen nicht ausreichend. Eine Ausnahme hiervon stellt ein auf rechnergestützter Bildverarbeitung basierendes Diagnosesystem zur Früherkennung des Bronchialkarzinoms (Lam et al. 1993b, Palcic et al. 1991).

Kehlkopf- und Oropharynxkarzinome stellen die häufigsten Malignome im Kopf-Hals-Bereich (Hölzel et al. 1996). Entscheidend für die Prognose der Patienten sind eine frühzeitige Diagnose und Therapie der Tumoren. Die Rezidiv- bzw. Progressionsrate der Tumoren nach Therapie ist weitgehend abhängig von prämaligen und malignen Veränderungen in der verbleibenden Mundschleimhaut. Zudem besteht nach Untersuchungen von SHIBUYA et al. (1987) nach Erstdiagnose eines Mundhöhlenkarzinoms ein erhöhtes Risiko, an einem Zweitkarzinom zu erkranken. Die Früherkennung prämaligener und maligner, aber zugleich makroskopisch oft unauffälliger Schleimhautläsionen stellt hohe Anforderungen an die klinische Routineuntersuchung zur Rezidivprophylaxe.

Die PD mit 5-ALA-induziertem PpIX stellt ein vielversprechendes Verfahren zur Diagnostik von Tumorfrühstadien in der Mundhöhle dar. Die Methode ist reproduzierbar und kann ergänzend zu den bekannten diagnostischen Verfahren ambulant durchgeführt werden. Die verhältnismäßig kurze Inkubationszeit kommt der klinischen Routine entgegen, lässt aber auch einen ausreichenden Spielraum für den intraoperativen Einsatz der PD zur fluoreszenzgeführten Resektion der Tumoren.

Andere Vorteile der 5-ALA-Fluoreszenzdiagnostik liegen in der Verwendung einer körpereigenen und nebenwirkungsfreien Substanz. Der Metabolit PpIX wird ausschließlich in epithelialen Strukturen akkumuliert. Das Verfahren ist unkompliziert in der klinischen Anwendung, wiederholbar, nicht invasiv und sowohl ambulant als auch intraoperativ anwendbar.

## 7. Schlussfolgerungen

Karzinome der Mundhöhle sind die häufigsten bösartigen Tumoren im Kopf-Hals-Bereich mit steigender Inzidenz.

Zielstellung unserer Untersuchungen war es, den klinischen Stellenwert von der Fluoreszenzmarkierung zur Erkennung von Karzinomen im Mundhöhlenbereich zu beurteilen. Als Fluoreszenzmarker wurde 5-ALA-induziertes Protoporphyrin IX angewandt.

5-ALA ist das Ausgangsprodukt der Häm-Biosynthese. Nach exogener Zufuhr von 5-ALA kommt es in malignen bzw. stark proliferierenden Zellen aufgrund einer gesteigerten Aufnahme und einem veränderten Enzymaktivitätsmuster zu einer selektiv erhöhten Anreicherung von rot fluoreszierendem Protoporphyrin IX. Tumorgewebe lässt sich damit durch einen Fluoreszenzkontrast gegenüber umliegendem Normalgewebe abgrenzen.

Die Patientenauswahl (n=379) wurde anhand der Diagnosestellung einer Schleimhautveränderung der Mundhöhle in den Jahren 1996 bis 2002 durchgeführt (Altersspanne 21-98 Jahre, Mittelwert Alter 60,9 Jahre und histologisch gesichertes Plattenepithelkarzinom bei 278 Patienten).

Die bildgebende Fluoreszenzdetektion erfolgte in der Mundhöhle mit einer eigens für diese Methode konzipierten Ausrüstung. Die Anregung der roten PpIX-Fluoreszenz erfolgte mit Hilfe einer Lichtquelle mit blau-violetttem Licht (380-440 nm). Diese kann im roten Spektralbereich (Maxima bei 635 und 705 nm) über einen Filter mit bloßem Auge wahrgenommen werden. Die spektrale Zusammensetzung des Anregungslichts ist so gewählt, dass das Intensitätsmaximum mit dem Absorptionsmaximum des PpIX (400 nm) zusammenfällt und Rotanteile der Strahlenquelle, die eine falsche Gewebefluoreszenz vortäuschen würden, unterdrückt werden (D-Light-System, Fa. Karl Storz, Tuttlingen, Deutschland). Das System der makroskopischen Fluoreszenzanalyse besteht aus Anregungslichtquelle (D-Light/AF-System, Storz, Tuttlingen, Deutschland) und Kamera.

Mit Hilfe eines Lichtkabels oder Endoskops kann das Anregungslicht bequem an die zu untersuchenden Areale der Mundhöhle herangeführt werden. Der zur Beobachtung der roten Fluoreszenz dienende Filter schwächt das blau-violette Anregungslicht ab, sodass die rot fluoreszierenden Areale auf einem blauen bzw. blaugrünen Hintergrund deutlich hervortreten. Zur Dokumentation und Identifizierung von den fluoreszierenden Arealen der Mundhöhle wurden mit einer hochauflösenden Farb-CCD-Videokamera Aufnahmen angefertigt.

Zur Diagnostik von Neoplasien in der Mundhöhle kam die 4%-ige 5-ALA-Mundspülung zur Anwendung. Bei der PpIX-Fluoreszenzdiagnostik war nach 5-ALA Mundspülung eine Sensitivität von 98 % feststellbar.

Insgesamt wurden Biopsien von 221 Patienten ausgewertet. Bei 216 Fällen konnte die klinisch erhobene Diagnose bestätigt werden. Alle Karzinome zeigten eine spezifische Fluoreszenz ( $\lambda=636$  nm). Histologisch gesicherte maligne Gewebeveränderungen mit therapeutischer Konsequenz bzw. maligne Befunde wurden in keinem Falle übersehen.

Neben den Patienten mit einem Karzinom bzw. einer hochgradigen Epitheldysplasie konnte anhand der PpIX-Fluoreszenz bei zwei untersuchten Patienten eine Papillomatose im Mundhöhlenbereich diagnostiziert werden.

Beobachtungen bei untersuchten Patienten zeigten, dass keine Anzeichen für eine Akkumulation von PpIX nach topischer 5-ALA Mundspülung auftraten. Eine Hautsensibilisierung als Nebenwirkung war damit nahezu auszuschließen.

Die Grenzen des Verfahrens werden definiert durch die rein oberflächliche Anfärbung von Tumorgewebe nach topischer Applikation, durch das schnelle Ausbleichen der PpIX-Fluoreszenz sowie durch falsch positive Befunde.

Die Vorteile der 5-ALA-Fluoreszenzdiagnostik liegen in der Verwendung einer körpereigenen und nebenwirkungsfreien Substanz. Der Metabolit PpIX wird ausschließlich in epithelialen Strukturen akkumuliert. Das Verfahren ist unkompliziert in der klinischen Anwendung, wiederholbar, nicht invasiv und sowohl ambulant als auch intraoperativ anwendbar.

Ziel weiterer Untersuchungen sollte eine Optimierung des Verfahrens durch die Etablierung der systemischen (per os) 5-ALA Applikation im Rahmen der Tumordiagnostik zur fluoreszenzgestützten Tumorresektion mit Laser sowie zur photodynamischen Therapie von Tumoren sein.

## 8. Literaturverzeichnis

### 1. Appleton, D.; Duguid, AB.; Lee, SK.; Ha, YJ.; Ha, HJ.; Leeper, FJ.:

Synthesis of analogues of 5-aminolaevulinic acid and inhibition of 5-aminolaevulinic acid dehydratase.

J. Chem. Soc. Perkin Transactions 1: 89-101 (1998).

### 2. Arnold, D.; Kennedy, G.; Keplinger, M; Calandra, J:

Mutagenicity studies with delta-aminolevulinic acid.

Food CosmetToxicol 13(1), 63-68 (1975).

### 3. Auler, H.; Banzer, G. :

Untersuchungen über die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren

Z. Krebsforsch. 53, 65-68 (1943).

### 4. Baumgartner, R.; Huber, R.M.; Schulz, H.; Stepp, H.; Rick, K.; Gamarra, F.; Leberig, A.; Roth, C.:

Inhalation of 5-aminolevulinic acid: a new technique for fluorescence detection of early stage lung cancer

J. Photochem. Photobiol. B. 36, 169-174 (1996).

### 5. Baumgartner, R.; Kriegmair, M.; Hofstetter, A.:

Fluorescence diagnosis of bladder tumor.

Tuttlingen, Ende-Press (1999).

### 6. Batsakis, J.:

Tumors of the head and neck – clinical and pathologic considerations. Baltimore: Williams and Wilkins, p. 86. (1974).

### 7. Bedwell, J.; Mac Robert, A.; Phillips, D.; Down, S.G.:

Fluorescence distribution and photodynamic effect of ALA-induced PPIX in the DMH rat colonic tumour model.

Br J Cancer 65(5), 818-824 (1992).

**8. Bethmann, W. :**

Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich.

In: Andrä, A.; Bethmann, W.; Heiner, H. (Hrsg.) : Kieferchirurgie – Klinik, 169-223, Johann Ambrosius

Barth Verlag, Leipzig (1979).

**9. Betz, C.:**

Combined fluorescence diagnosis (5-ALA induced PpIX and autofluorescence) for the detection and delimitation of oral carcinomas: fluorescence imaging, spectral analysis and kinetic.

Dissertation an der LMU München (2000).

**10. Bier, J. ( DÖSAK ) :**

Definitionen zum radikalchirurgischen Vorgehen bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 6, 369-372 (1982).

**11. Bier, J.; Howaldt, H.-P.; Pitz, H. :**

IV. DÖSAK - Therapie - Studie. Prospektive, randomisierte, klinische Studie für Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle: Radikale Neck dissection versus konservativ Neck dissection.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 108-110 (1992).

**12. Bottomley, S.; Müller-Eberhard, U.:**

Pathophysiology of heme synthesis.

Semin Hematol 25, 282-302 (1988).

**13. Bryne, M.; Koppang, H.S.; Lilleng, R.; Stene, T.; Bang, G.; Dabelsteen, E. :**

New malignancy grading is a better prognostic indicator than Brothers' grading in oral squamous cell carcinomas.

J oral Pathol Med 18, 432 (1989).

**14. Burkhardt, A. :**

Der Mundhöhlenkrebs und seine Vorstadien.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart – New York (1980).



**15. Chen, T.; Emrich, L.; Driscoll, D. :**

The clinical significance of pathological findings in surgically resected margins of the primary tumor in head and neck carcinoma.

Int J Radiat Oncol Biol Phys, 13:833-7 (1987).

**16. Dailey, H.; Smith, A.:**

Differential interaction of porphyrins used in photoradiation therapy with ferrochelatase.

Biochem J 223(2), 441-445 (1984).

**17. Daun, R.; Devine, K.:**

Tetracycline-induced fluorescence of laryngeal, pharyngeal and oral cancer.

Laryngoscope 82(2), 189-198 (1972).

**18. Cutler, M.; Moore, M.; Ewart, F.G.:**

Effects of delta-aminolevulinic acid administration on social behaviour in the laboratory mouse.

Psychopharmacology 61, 131-135 (1979).

**19. Del C. Batlle, A.:**

Porphyrins, porphyrias, cancer and photodynamic therapy – a model for carcinogenesis.

J Photochem Photobiol B 20(1), 5-22 (1993).

**20. Divaris, D.; Kennedy, J.; Pottier, R.:**

Phototoxic damage to sebaceous glands and hair follicles of mice after systemic administration of 5-aminolevulinic acid correlates with localized protoporphyrin IX fluorescence.

Am J Pathol 136(4), 891-897 (1990).

**21. Dougherty, T.; Cooper, M.; Mang, T.:**

Cutaneous phototoxic occurrences in patients receiving photofrin.

Lasers Surg Med 5, 485-488 (1990).

**22. Dunsche, A.; Härle, F. :**

Die Krebsvorstufen der Mundschleimhaut – eine Übersicht.

Laryngologie Rhinologie Otologie, 79: 423-427 (2000).

**23. Eckhardt, A.; Schmelzeisen, R. :**

Klinische Problematik der multizentrischen Kanzerisierung bei Patienten mit Mundhöhlenkarzinomen – Bedeutung für die Tumornachsorge.  
Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 69-70 (1992).

**24. Edwards, S.; Shanley, B.; Reynoldson, J.:**

Neuropharmacology of 5-aminolevulinic acid. Effect of acute administration in rodents.  
Neuropharmacology 23(4), 477-481 (1984).

**25. Egger, N; Motamedi, M.; Pow-Sang, M.; Orihuela, E.; Anderson, K.:**

Accumulation of porphyrins in plasma and tissues of dogs after delta-aminolevulinic acid administration: implications for photodynamic therapy.  
Pharmacology 52(6), 362-370 (1996).

**26. El Sharabasy, M.; El Waseef, A.; Hafez, M.; Salim, S.:**

Porphorin metabolism in some malignant diseases.  
Br J Cancer 65(3), 409-412 (1992).

**27. Fries, R., DÖSAK :**

Karzinome der Mundhöhle. Zur Frage der Abhängigkeit der Prognose vom histologischen Differenzierungsgrad des Primärtumors.  
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 2, 144 (1978a).

**28. Fries, R., DÖSAK :**

Karzinome der Mundhöhle. Zur Frage der Abhängigkeit der Prognose von der Lokalisation des Primärtumors „Organe der Mundhöhle“.  
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 2, 63-65 (1978b).

**29. Fries, R; Platz, H.; Wagner, R.R.; Stickler, A.; Grabner, H.; Kränzl, B.; Krekeler, G.; Kriens, O.; Leijhanec, J.; Mehnert, H.; Scharf, F.; Schroll, K.; Schulz, P.; Waldhart, E.; Wepner, F.; Zisser, G. :**

Karzinome der Mundhöhle. Zur Frage der Abhängigkeit der Prognose von Alter und Geschlecht.  
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 3, 127-132 (1979).

**30. Fries, R. :**

Deutsch – Österreichisch – Schweizerischer Arbeitskreis für Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich (DÖSAK).

Österr Z Stomatol 77, 391-394 (1980).

**31. Fries, R. :**

Die Bedeutung der klinischen Beobachtungsstudien des DÖSAK für die Onkologie des Mundhöhlenkarzinoms.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 3-4 (1992).

**32. Fritsch, C.; Lang, K.; Neuse, W.; Ruzicka, T.; Lehmann, P.:**

Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology.

Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol. 11/6, 358-373 (1998).

**33. Fröhlich, M.; Bernstein, P.; Metelmann, H.-R.; Möhner, M. :**

Zur Epidemiologie der Lippen- und Mundhöhlenmalignome.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 1-3 (1992).

**34. Fukuda, H.; Paredes, S.; Del C. Batlle, A.:**

Tumor-localizing properties of porphyrins. In vivo studies using free and liposome encapsulated aminolevulinic acid.

Comp Biochem. Physiol B 102(2), 433-436 (1992).

**35. Gitt, H.A.; Bernt, H.; Fröhlich, M.; Rink, B.; Seela, W.; Tischendorf, L., Wicklein, B. :**

Multizentrische retrospektive Studie zum Lippen- und Mundhöhlenkarzinom.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 13, 472-476 (1989).

**36. Ghadially, F.; Neish, W.; Dawkins, H. :**

Mechanisms involved in the production of red fluorescence of human and experimental tumours.

J Path Bact 85, 77-90 (1963).

**37. Gomer, C.J.; Dougherty, T.J.:**

Determination of [3H]- and [14C]-hematoporphyrinderivate distribution in malignant and normal tissue.

Cancer Res. 39/1, 146-151 (1979).

**38. Gorchein, A.; Webber, R.:**

Delta-Aminolevulinic acid in plasma, cerebrospinal fluid, saliva and erythrocytes: studies in normal, uraemic and porphyric subjects.

Clin Sci 72(1), 103-112 (1987).

**39. Gorchein, A.:**

Metoclopramide and acute porphyria.

Lancet 350, 1104 (1997).

**40. Gordon, N.:**

The acute porphyrias.

Brain Dev 21, 373-377 (1999).

**41. Günther, H.:**

Die Hämatoporphyrin.

Deutsch Arch Klein Med 105, 89-146 (1911).

**42. Goutermann, M.:**

Spectra of porphyrins.

J Mol Spectroscopy 6, 138-163 (1961).

**43. Goutermann, M.:**

Optical spectra and electronic structure of porphyrins und related rings.

In: The porphyrins. D. Dolphin (Hrsg.). Academic Press, New York, S. 1-165 (1978).

**44. Gray, M.J.; Lipson, R.; Maeck, J.V.; Parker, L.; Romeyn, D.:**

Use of hematoporphyrin derivate in detection and management of cervical cancer.

Am. J. Obstet. Gynecol. 99/5, 766-771 (1967).

**45. Grimm, G. :**

Geschwülste im Mund- und Kieferbereich.

In: Schwenzer, N. ; Grimm, G. (Hrsg.) : Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde Bd. 2, 253-357,

Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York (1990).

**46. Gundlach, K.K.H. :**

Wieviele Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle sind aus Leukoplakien entstanden?

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 16, 109-111 (1992).

**47. Heiner, H.; Schumann, D.; Raabe, G.; Schelhorn, P. :**

Tumorfrüherkennung in der Mundhöhle.

Stomatol 33, 438-445 (1983).

**48. Henderson, R.W.; Christie, G.S.; Clezy, P.S.; Lineham, J.:**

Haematoporphyrin diacetate: a probe to distinguish malignant from normal tissues by selective fluorescence.

R. J. Exp. Path. 61, 345-350 (1980).

**49. Herman, M.; Webber, J.; Fromm, D.; Kessel, D.:**

Hemodynamic effects of 5-aminolevulinic acid in humans.

J Photochem Photobiol B 43(1), 61-65 (1998).

**50. Hillemanns, P.; Weingandt, H.; Baumgartner, R.; Diebold, J.; Xiang, W.; Stepp, H.:**

Photodetection of cervical intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence.

Cancer 88/10, 2275-2282 (2000).

**51. Hix, W.; Wilson, W. :**

Toluidine blue staining of the esophagus. A useful adjunct in the panendoscopic evaluation of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck.

Arch Otolaryngol Head Neck Surg 113, 864 – 865 (1987).

**52. Höltje, W.-J.; Schwipper, V.; Klose, G.; Machner, Th. :**

5-Jahres-Überlebensrate von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle, eine retrospektive Studie.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 26-29 (1992).

**53. Holdt, L.; Eder, I.E.; Klocker, H.; Hobisch, A.; Bartsch, G.; Stenzel, A.:**

Photodynamic diagnosis with 5-aminolevulinic acid in the treatment of secondary urethral tumors: first in vitro and in vivo results.

Eur. Urol. 39/2, 178-182 (2001).

**54. Howaldt, H.-P. :**

Tumor – Dokumentation im Mund-, Kiefer-, und Gesichtsbereich. Aufbau und Ergebnisse als Grundlage für ein überregionales Register.

Frankfurt ( Main ), Univ., Habil. – Schr. (1989).

**55. Howaldt, H.-P.; Bitter, Kl. :**

Fortschritte und Schwerpunkte der Geschwulstbehandlung im Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereich. Systematische Erhebung des DÖSAK.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Sonderband, 61-67 (1990).

**56. Howaldt, H.-P.; Pitz, H.; Frenz, M. :**

Zwei Jahre klinische Dokumentation von Kopf – Hals – Tumoren im zentralen Tumorregister des DÖSAK.

Fortschr Kiefer Gesichtschir 37, 8-10 (1992).

**57. Huber, R.M.; Gamarra, F.; Leberig, A.; Stepp, H.; Rick, K.; Häussinger, K.; Baumgartner, R.:**

Value of photodynamic diagnosis in bronchology: Early detection of lung cancer possible?

Atemw. -Lungenkrkh. 21, 558-561 (1995).

**58. Hudec, M.; Tjoa, A.M.; Platz, H. :**

Zur Problematik der Berechnung und Interpretation von Überlebensraten verschiedener Krebspopulationen.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 3, 92-96 (1979).

**59. Hudec, M.; Tjoa, A.M.; Wagner, R.R.; Platz, H. :**

Zur Methodik der statistischen Auswertung medizinischer Daten.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 4, 60-64 (1980).

**60. Hyckel, P.; Metzner, G.; Müller, P.; Quade, R. :**

Die prognostische Relevanz histologischer und immunologischer Parameter als Beitrag zur Erarbeitung eines individualisierten Therapieschemas für das Mundhöhlenkarzinoms.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 9, 475-480 (1985).

**61. Hyckel, P.; Mansel, B.; Schumann, D.; Ahlendorf, W.; Müller, P.; Hoyer, H. :**

Die Individualisierung der Tumorthherapie auf der Basis biologischer Parameter und der Prognosebewertung mit Hilfe des TPI.

Fortschr Kiefer Gesichtschir 37, 56-58 (1992a).

**62. Hyckel, P.; Hoyer, H.; Epstude, J.; Müller, P.; Schumann, D.; Müller, E.-I.; Mägdefessel, U. :**

Überprüfung der prognostischen Wertigkeit biologischer Parameter anhand der entscheidenden prognoserelevanten Faktoren des TPI am Krankengut der Jenaer Klinik in den Jahren 1986 bis 1991.

Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd 80, 399-403 (1992b).

**63. Iinuma, S.; Farshi, S.; Ortel, B.; Hasan, T.:**

A mechanistic study of cellular photodestruction with 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin.

Br J Cancer 70(1), 21-28 (1994).

**64. Kappas, A.; Sassa, S.; Galbraith, R.:**

The porphyrias. In: The metabolic and molecular basis of inherited disease. Scriver, C.; Beaudet, A.; Sly, W. (Hrsg.).

Mc Graw-Hill, Inc., New York, S. 2103 (1995).

**65. Kato, H.; Imaizumi, T.; Aizawa, K.; Yamamoto, H.; Ikeda, N.; Tsuchida, T.; Tamachi, Y.; Ito, T.; Hayata, Y.:**

Photodynamic diagnosis in respiratory tract malignancy using an excimer dye laser system.

J. Photochem. Photobiol. B6/1-2, 189-196 (1990).

**66. Kelly, J.F.; Snell, M.E.:**

Hematoporphyrin derivate: a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder.

J. Urol. 115, 150-157 (1976).

**67. Kennedy, G., Jr.; Arnold, D.; Calandra, J:**

Toxicity studies with delta-aminolevulinic acid.

Food Cosmet Toxicol 14(1), 45-47 (1976).

**68. Kennedy, J. C.; Pottier, R.H.; Pross, D.C.:**

Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience.

J. Photochem. Photobiol. B 6, 143-148 (1990).

**69. Kennedy, J. C.; Pottier, R.H.:**

Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy.

J. Photochem. Photobiol. B. : Biol. 14, 275-292 (1992).

**70. King, E.G.; Man, G.; Le Riche, J.; Amy, R.; Profio, A.E.; Dorion, D.R.:**

Fluorescence bronchoscopy in the localization of bronchogenic carcinoma.

Cancer 49, 777-782 (1982).

**71. Koch, H. :**

Grundzüge der lymphogenen Metastasierung des Mundhöhlenkarzinoms.

Westdeutscher Verlag, Opladen (1978).

**72. Kolli, V.; Savage, H.; Yao, T.; Schantz, S. :**

Native cellular fluorescence of neoplastic upper aerodigestive mucosa.

Arch Otolaryngol Head Neck Surg 121, 1287-1292 (1995a).

**73. Kondo, M.; Hirota, N.; Takaoka, T.; Kajiwar, M.:**

Heme-biosynthetic enzyme activities and porphyrin accumulation in normal liver and hepatoma cell lines of rat.

Cell Biol Toxicol 9(1), 95-105 (1993).

**74. Kongshaug, M.; Moan, J.; Cheng, L.; Garbo, G.; Kolboe, S.; Morgan, A.; Rimington, C.:**

Binding of drugs to human plasma proteins, exemplified by Sn(IV)-etiopurpurin dichloride delivered in cremophor and DMSO.

Int J Biochem 25(5), 739-760 (1993).

**75. Kriegmair, M.; Baumgartner, R.; Knüchel, R.; Stepp, H.; Hofstädter, F.; Hofstetter, A.:**

Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence

J. Urol. 155, 105-109 (1996).



**76. Kriegmair, M.; Zaak, D.; Knüchel, R.; Baumgartner, R.; Hofstetter, A.:**

5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy for the detection of lower urinary tract tumours.  
Urol Int 63, 27-31 (1999).

**77. Krüger, E. :**

Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie.

In: Krüger, E. (Hrsg.) : Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, 77-204, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1986).

**78. Kyriazis, G.A.; Balin, H.; Lipson, R.L.:**

Haematoporphyrin-derivate-fluorescence test colposcopy and colpophotography in the diagnosis of atypical metaplasia, dysplasia and carcinoma in situ of the cervix uteri.

Am. J. Obstet. Gynecol. 117/3, 375-380 (1973).

**79. Ladner, D.P.; Steiner, R.A.; Allemann, J.; Haller, U.; Walt, H.:**

Photodynamic diagnosis of breast tumors after oral application of aminolevulinic acid.

Br. J. Cancer 84/1, 33-37 (2001).

**80. Landthaler, M.; Ruck, A.; Szeimies, R.:**

Photodynamic therapy of skin tumors.

Hautarzt 44, 69-74 (1993).

**81. Lang, S.; Baumgartner, R.; Struck, R.; Leunig, A.; Gutmann, R.; Feyh, J.:**

Photodynamic diagnosis and therapy of neoplasma of the facial skin after topical administration of 5-aminolevulinic acid.

Laryngorhinootologie 74/2, 85-89 (1995).

**82. Leibovici, L.; Schönfeld, N.; Yehoshua, H.; Mamet, R.; Rakowski, E.; Shindel, A.; Atsmon, A.:**

Activity of porphobilinogen deaminase in peripheral blood mononuclear cells of patients with metastatic cancer.

Cancer 62, 2297-2300 (1988).

**83. Leonard, J.; Beck, W. :**

Hematoporphyrin fluorescence: an aid in diagnosis of malignant neoplasms.

Laryngoscope 81, 365-372 (1971).

**84. Leunig, A.; Rick, K.; Stepp, H.; Gutmann, R.; Goetz, A.; Baumgartner, R.; Feyh, J.:**

Fluorescence imaging and spectroscopy of 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX for the detection of neoplastic lesions in the oral cavity.

Am. J. Surg. 172, 674-677 (1996a).

**85. Leunig, A.; Rick, K.; Stepp, H.; Goetz, A.; Baumgartner, R.; Feyh, J.:**

Photodynamische Diagnostik von Neoplasien der Mundhöhle nach lokaler Applikation von 5-Aminolävulinsäure.

Laryngol. Rhinol. Otol. Stuttg. 75, 459-464 (1996b).

**86. Leunig, A.; Betz, C.S.; Mehlmann, M.; Stepp, H.; Arbogast, S.; Grevers, G.; Baumgartner, R.:**

Detection of squamous cell carcinoma of the oral cavity by imaging 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence.

Laryngoscope 110, 78-83 (2000a).

**87. Leunig, A.; Betz, C.S.; Mehlmann, M.; Stepp, H.; Arbogast, S.; Grevers, G.; Baumgartner, R.:**

A pilot series demonstrating fluorescence staining of laryngeal papilloma using 5-aminolevulinic acid.

Laryngoscope 110, 1783-1785 (2000b).

**88. Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olson, A.:**

Hematoporphyrin derivate: A new acid for endoscopic detection of malignant disease.

J. Thoracic. Surg. 42, 623-629 (1961).

**89. Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olson, A.:**

Hematoporphyrin derivate for detection and management of cancer.

Cancer 20/12, 2255-2257 (1967).

**90. Loh, C.; MacRobert, A.; Bedwell, J.; Regula, J.; Krasner, N.; Bown, S.:**

Oral versus intravenous administration of 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy.

Br J Cancer 68 (1), 41-45 (1993).

**100. Lippa, P.; Jacob, K.; Ehret, W.:**

The production of porphyrins from delta-aminolevulinic acid by *Haemophilus parafluenzae*.

J Med Microbiol 39(4), 262-267 (1993).

**101. Malik, E.; Berg, C.; Meyhofer-Malik, A.; Buchweitz, O.; Moubayed, P.; Diedrich, K.:**

Fluorescence diagnosis of endometriosis using 5-aminolevulinic acid.

Surg. Endosc. 14/5, 452-455 (2000).

**101. Mashberg, A. :**

Reevaluation of toluidine blue application as a diagnostic adjunct in the detection of asymptomatic oral squamous carcinoma: a continuing prospective study os oral cancer III.

Cancer 46, 758-763 (1980).

**102. Mayinger, B.; Reth, H.; Hochberger, J.; Hahn, E.G.:**

Endoscopic photodynamic diagnosis: oral aminolevulinic acid is a maker of GI cancer and dysplastic lesions.

Gastrointest. Endosc. 50/2, 242-246 (1999).

**103. Mehlmann, M.; Betz, C.S.; Arbogast, S.; Baumgartner, R.; Grevers, G.; Leunig, A.:**

Fluorescence staining of laryngeal neoplasmas after local application of 5-aminolevulinic acid: preliminary results.

Laser Surg. Med. 25/5, 414-420 (1999).

**104. Messmann, H.; Knuchel, R.; Endlicher, E.; Hauser, T.; Szeimies, R.M.; Kullmann, F.; Bauml, W.; Scholmerich, J.:**

Photodynamic diagnosis of gastrointestinal precancerous lesions after sensitization with 5-aminolevulinic acid. A pilot study.

Dtsch. Med. Wochenschr. 123/17, 515-521 (1998).

**105. Mohr, Ch.; Bohndorf, W.; Gremmel, H.; Härle, F.; Hausamen, J.-E.; Hirche, H.; Molls, M.; Renner, K.-H.; Reuther, J.; Sack, H.; Schettler, D.; Scheunemann, H.; Thelen, M. :**

Präoperative Radio-chemotherapie und radikale Operation fortgeschrittener Mundhöhlenkarzinome- Abschlussergebnisse einer prospektiven Therapiestudie des DÖSAK.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 13-17 (1992).

**106. Mohr, Ch.; Bohndorf, W.; Carstens, J.; Härle, F.; Hausamen, J.-E.; Hirche, H.; Kimmig, H.; Kutzner, J.; Mühling, J.; Reuther, J.; Sack, H.; Schettler, D.; Stellmach, R.; Wagner, W.; Wannenmacher, M.F. :**

Präoperative Radio-chemotherapie versus alleinige Radikaloperation fortgeschrittener Mundhöhlenkarzinome- 3-Jahresergebnisse einer prospektiven, randomisierten Therapiestudie im Auftrag des DÖSAK.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir. 18, 5-12 (1994).

**107. Morgenroth, K. :**

Zur Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms.

Dtsch Stomat 18, 120-124 (1968).

**108. Morgenroth, K.; Bremerich, A.; Lange, D.E. :**

Geschwülste der Mundhöhle.

In : Morgenroth, K.; Bremerich, A.; Lange, D.E. (Hrsg.) : Pathologie der Mundhöhle, 3. überarb. Aufl., 208-254, Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York (1996).

**109. Mühling, J.; Reuther, J.; Weber, W.; Ordnung, R.; Brillinger, A. :**

Der Einfluss moderner Rekonstruktionsverhalten auf Radikalität und Überlebenszeit beim Mundhöhlenkarzinom.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 86-88 (1992).

**110. Müller, W.; Schneider, J.; Bleckmann, I. :**

Untersuchungen zur Prognoserelevanz klinischer und histopathologischer Parameter oraler Plattenepithelkarzinome.

Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 16, 86-88 (1992).

**111. Navone, N.M.; Polo, C.F.; Frisardi, A.L.; Andrade, N.E.; Del C. Battle, A.M.:**

Heme biosynthesis in human breast cancer-mimetic „in vitro” studies and some heme enzymic activity levels.

Int. J. Biochem. 22, 1407-1411 (1990).

**112. Ninomiya, Y.; Itoh, Y.; Henta, T.; Ishibashi, A.:**

Photodynamic diagnosis of basal cell carcinoma on the lower eyelid using topical 5-aminolevulinic acid and desferrioxamine.

Br. J. Dermatol. 141/3, 580-581 (1999).

**113. Novo, M.; Hüttmann, G.; Diddens, H.:**

Chemical instability of 5-aminolevulinic acid used in the fluorescence diagnosis of bladder tumours.

J Photochem Photobiol B 34(2-3), 143-148 (1996).

**114. Onuki, J.; Medeiros, M.; Bechara, E.; Di Mascio, P.:**

5-aminolevulinic acid induces single-strand breaks in plasmid pBR322 DNA in the presence of Fe 2+ ions.

Biochem Biophys Acta 1225, 259-263 (1994).

**115. Ordnung, R.; Reuther, J.; Weber, W.; Michel, Ch. :**

Beobachtungen zum Überleben von Patienten mit Mundhöhlenkarzinomen in Abhängigkeit von Alter und Begleiterkrankungen.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 59-61 (1992).

**116. Orenstein, A.; Kostenich, G.; Roitman, L.; Shechtman, J.; Kopolovic, Y.; Ehrenberg, B.; Malik, Z.:**

A comparative study of tissue distribution and photodynamic therapy selectivity of chlorin e6, Photofrin II and ALA-induced protoporphyrin IX in a colon carcinoma model.

Br J Cancer 73(8), 937-944 (1996).

**117. Orth, K.; Russ, D.; Steiner, R.; Berger, H.G.:**

Fluorescence detection of small gastrointestinal tumors: principles, technique, first clinical experience.

Langenbecks Arch. Surg. 385/7, 488-494 (2000).

**118. Pape, H.-D., DÖSAK :**

Größe der malignen Mundschleimhaut – Tumoren zum Zeitpunkt der Primärdiagnostik.

Dtsch Zahnärztl Z 36, 689 (1981).

**119. Peng, Q.; Moan, J.; Warloe, T.; Nsland, J.M.; Rimington, C.:**

Distribution and photosensitizing of porphyrins induced by application of exogenous 5-aminolevulinic acid in mice bearing mammary carcinoma.

Int J Cancer 52(3), 433-443 (1992).

**120. Peng, Q.; Warloe, T.; Moan, J.; Heyerdahl, H.; Steen, H.B.; Nsland, J.M.; Giercksky, K.E.:**

Distribution of 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins in noduloulcerative basal cell carcinoma.

Photochem. Photobiol. 62(5), 906-913 (1995).

**121. Pindborg, J.J. :**

Krebs und Vorkrebs der Mundhöhle.

Quintessenz Verlag – GmbH, Berlin – Chicago – Rio de Janeiro – Tokio (1982).

**122. Pierach, C.; Edwards, P.:**

Neurotoxicity of delta-aminolevulinic acid and porphobilinogen.

Exp Neurol 62(3), 810-814 (1978).

**123. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M.; Tjoa, A.M.; Wagner, R.R. :**

Retrospektive DÖSAK – Studie über Karzinome der Mundhöhle. Die prognostische Relevanz verschiedener Faktoren zum Zeitpunkt der Erstaufnahme des Patienten.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 6, 185-196 (1982).

**124. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M.; Tjoa, A.M.; Wagner, R.R. :**

Retrospektive DÖSAK – Studie über Karzinome der Mundhöhle. Analyse verschiedener prätherapeutischer Klassifizierungen.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 6, 5-20 (1982).

**125. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M. :**

Retrospektive DÖSAK – Studie über Karzinome der Mundhöhle. Therapieabhängiger Prognoseindex TPI.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 7, 287-296 (1983).

**126. Platz, H.; Fries, R. :**

Malignome im Kiefer- und Gesichtsbereich.

In : Gross, R.; Schmidt, C.G. (Hrsg.) : Klinische Onkologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

– New York (1985).

**127. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M. :**

Die Prognose der Mundhöhlenkarzinome. Ergebnisse der Multizentrischen Retrospektiven DÖSAK – Studie.

Carl Hanser Verlag, München – Wien (1986).

**128. Platz, H. :**

Fortschritte in der speziellen Onkologie des Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereiches von 1975 bis 1985.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 10, 325-336 (1986).

**129. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M. :**

Einführung in die „Prospektive DÖSAK – Studie über Plattenepithelkarzinome der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx“.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 12, 293-302 (1988).

**130. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M. :**

Kritische Validierung des Therapieabhängiger Prognoseindex TPI anhand der „Retrospektive DÖSAK – Studie über Plattenepithelkarzinome der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx“.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 13, 329-337 (1989).

**131. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M.; DÖSAK :**

CIP – Computerunterstützte Individuelle Prognosestellung bei Plattenepithelkarzinomen der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx.

Originalarbeit, Linz und Wien (1992a).

**132. Platz, H.; Fries, R.; Hudec, M.; DÖSAK :**

Computerunterstützte Individuelle Prognosestellung ( CIP ) bei Plattenepithelkarzinomen der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 16, 248-254 (1992b).

**133. Policard, A.:**

Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood.

Compte-rendus Soc. Biol. 91, 1423-1424 (1924).

**134. Portugal, L.; Wilson, K.; Biddinger, P.; Gluckman, J.:**

The role of toluidine blue in assessing margin status after resection of squamous cell carcinomas of the upper aerodigestive tract.

Arch Otolaryngol Head Neck Surg 122(5), 517-519 (1996).

**135. Pottier, R.H.; Chow, Y.F.A.; Laplante, J.P.; Truscott, T.G.; Kennedy, J.C.; Beiner, L.A.:**

Non-invasive technique for obtaining fluorescence excitation and emission spectra in vivo. Photochem. Photobiol. Bd.44, 679-687 (1986).

**136. Pottier, R.H.:**

In vitro and in vivo fluorescence monitoring of photosensitizers

J. Photochem. Photobiol. Bd.6, 103-109 (1990).

**137. Raabe, G.; Schumann, D. :**

Klinische, histopathologische und tierexperimentelle Untersuchungen zur Leukoplakia oris.  
Medizin. Fakultät Universität Jena, Diss. B (1980).

**138. Rasetti, L.; Rubino, G.F.; Tettinatti, L.; Drago, W.:**

Porphyrin, porphobilinogen and amino ketone levels in tumor tissue.  
Panminerva. Med. 7, 105-110 (1963).

**139. Rasmussen-Taxdal, D.S.; Ward, G.E.; Figge, F.H.J.:**

Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin.  
Cancer 8, 78-81 (1955).

**140. Regula, J.; Ravi, B.; Bedwell, J.; MacRobert, A.; Bown, S.:**

Photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid for experimental pancreatic cancer – prolonged animal survival.  
Br J Cancer 70(2), 248-254 (1994).

**141. Reich, R.H.; Wegener, D.; Hausamen, J.-E.; Knobbe, H. :**

10 – Jahres – Studie zum Rezidivverhalten und Überleben nach ablativer Chirurgie von nicht vorbehandelten Mundhöhlenkarzinomen.  
Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 30-33 (1992).

**142. Reichart, P.; Schulz, P.; Walz, C.; Beyer, D.; Pape, H.-D.; Hausamen, J.-E.; Remagen, W.; Howaldt, H.-P. :**

Früherkennung von Neubildungen im Kiefer- und Gesichtsbereich durch den praktizierenden Zahnarzt.  
Deutsche Krebshilfe e. V., Bonn (1991).

**143. Reichert, T.; Störkel, S.; Lippold, R.; Reiffen, K.-A.; Brandt, B.; Wagner, W. :**

Vergleich histologischer Prognoseparameter beim Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.  
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 16, 89-92 (1992).

**144. Reichert, T.; Wagner, W.; Störkel, S.; Lippold, R. :**

Pathohistologische Faktoren als Prognoseparameter des Plattenepithelkarzinoms.  
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 18, 31-35 (1994).



**145. Richards-Kortum, R.; Rava, R.P.; Petras, R.E.; Fitzmaurice, M.; Sivak, M.; Feld, M.S. :**

Spectroscopic diagnosis of colonic dysplasia.

Photochem. Photobiol. 53, 777-786 (1991).

**146. Richards-Kortum, R.; Sevick-Muraca, E. :**

Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis.

Annu Rev Phys. Chem. 47, 555-606 (1996).

**147. Rick, K.; Sroka, R.; Stepp, H.; Kriegmair, M.; Huber, R.; Jacob, K.; Baumgartner, R.:**

Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced Protoporphyrin IX in skin and blood.

J Photochem Photobiol B 40(3), 313-319 (1997).

**148. Rimington, C.:**

A review of the enzymic errors in the various porphyrias.

Scand J Clin Lab Invest 45(4), 291-301 (1985).

**149. Riopelle, R.; Kennedy, J.:**

Some aspects of porphyrin neurotoxicity in vitro.

Can J Physiol Pharmacol 60(5), 707-714 (1982).

**150. Rubino, G.F.; Rasetti, L.:**

Porphyrin metabolism in human neoplastic tissues.

Panminerva. Med. 8, 290-292 (1966).

**151. Schmelzeisen, R.; Michiwaki, Y.; Reich, R.H.; Prokop, M.; Wegener, T.; Bettin, T.; Hacki, T. :**

Überlebensraten und funktionelle Ergebnisse nach mikrochirurgischen Rekonstruktionsverhalten im Bereich der Mundhöhle.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 82-86 (1992).

**152. Schönfeld, N.; Epstein, O.; Lahav, M.; Mamet, R.; Shaklai, M.; Atsmon, A.:**

The heme biosynthetic pathway in lymphocytes of patients with malignant lymphoproliferative disorders.

Cancer Lett 43(1-2), 43-48 (1988).

**153. Schönfeld, N.; Mamet, R.; Mevasser, R.; Atsmon, A.:**

Experimental latent and acute porphyria in the non-fasted rat; preventive effect of propranolol.  
Scand J Clin Lab Invest 51, 667-673 (1991).

**154. Schumann, D.; Hyckel, P.; Müller, P.; Mansel, B. :**

Onkochirurgische Radikalität, Rezidivverhalten und Wiederherstellung am Krankengut der Jeaner Klinik (1969-1989).  
Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 37-39 (1992).

**155. Seitz, J.; Monges, G.; Navarro, P.; Giovannini, M.; Gauthier, A.:**

Endoscopic detection of dysplasia and subclinical cancer of the esophagus. Results of a prospective study using toluidine blue vital staining in 100 patients with alcoholism and smoking.  
Gastroenterol Clin Biol 1, 15-21 (1990).

**156. Silverman, S.:**

Early diagnosis of oral cancer.  
Cancer 62, 1796-1799 (1988).

**157. Sima, A.; Kennedy, J.; Blakeslee, D.; Robertson, D.:**

Experimental porphyric neuropathy: a preliminary report.  
Can J Neurol Sci 8(2), 105-113 (1981).

**158. Smith, A.:**

Mechanisms of toxicity of photoactivated artificial porphyrins. Role of porphyrin-protein interactions.  
Ann N Y Acad Sci, (1987).

**159. Sommer, K.; Diddens, H.; Hüttmann, G.; Remmert, S.:**

Experimentelle Untersuchungen zur Fluoreszenzdiagnostik von Plattenepithelkarzinomen der Zunge und in der Mundhöhle mit lokal applizierter 5-Aminolävulinsäure (ALA).  
HNO-Informationen 20, 147 (1995).

**160. Soret, J.:**

Recherches sur l'absorption des rayons ultra-violet par diverses substances.  
Arch des Sciences Phys et Natur 10, 430-485 (1883).

**161. Spiessl, B. :**

Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle.

Thieme Verlag, Stuttgart – New York (1966).

**162. Spiessl, B. :**

Die Prinzipien des TNM - Systems.

Schweiz Mschr Zahnheilk 88, 217 (1978).

**163. Spiessl, B. :**

Die TNM – Klassifikation ( 1987 neu aufgelegt ).

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 12. 83-85 (1988).

**164. Sroka, R.; Beyer, W.; Gossner, L.; Sassy, T.; Stocker, S.; Baumgartner, R.:**

Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic-acid-induced porphyrins in tumour-bearing mice.

J Photochem Photobiol B 34, 13-19 (1996).

**165. Srugo, I.; Said, E.; Korman, S.; Jaffe, M.:**

Acute intermittent prophyria- an unusual cause of “surgical” abdomen. Response to propranolol therapy.

Eur J Pediatr 146, 305-308 (1987).

**166. Steinbach, P.; Weingandt, H.; Baumgartner, R.; Kriegmair, M.; Hofstadter, F; Knüchel, R.:**

Cellular fluorescence of the endogenous photosensitizer protoporphyrin IX following exposure to 5-aminolevulinic acid.

Photochem Photobiol 62(5), 887-895 (1995).

**167. Stummer, W.; Stocker, S.; Novotny, A.; Heimann, A.; Sauer, O.; Kempfski, O.; Plesnila, N.; Wietzorreck, J.; Reulen, H.J.:**

Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence.

Neurosurgery 42/3, 518-526 (1998).

**168. Stummer, W.; Novotny, A.; Stepp, H.; Goetz, C.; Bise, K.; Reulen, H.J.:**

Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients.

J. Neurosurg. 93/6, 1003-1013 (2000).

**169. Thadani, H.; Deacon, A.; Peters, T.:**

Diagnosis and management of porphyria.

BMJ 320, 1647-1651 (2000).

**170. Thompson, R.P.; Nicholson, D.C.; Farnan, T.; Whitmore, D.N.; Williams, R.:**

Cutaneous porphyria due to a malignant primary hepatoma.

Gastroenterology 59, 779-783 (1970).

**171. Tio, T. H.; Leijnse, B.; Jarret, A.; Rimington, C.:**

Acquired porphyria from a liver tumor.

Clin. Sci. 16, 517-525 (1957).

**172. Tischendorf, L.; Schubert, J.; Grimm, G. :**

Überprüfung des therapieabhängigen Prognoseindex (TPI) des DÖSAK am Krankengut der Hallenser kieferchirurgischen Klinik.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtChir 9, 65-69 (1985).

**173. UICC :**

TNM – Klassifikation maligner Tumoren. Genf 1978.

Hrsg.: Harmer, M.H.; Akademie – Verlag, Berlin (1980).

**174. UICC :**

TNM – Klassifikation maligner Tumoren.

4. Aufl.; Springer Verlag, Berlin (1987).

**175. Vaidyanathan, V; Rastegar, S.; Fossum, T.; Flores, P.; van der Breggen, J.; Egger, N.; Jacques. S.; Motamedi, M:**

A study of aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence kinetics in the canine oral cavity.

Lasers Surg Med 26, 405-414 (2000).

**176. van Hillegersberg, R.; van den Berg, J.; Kort, W.; Terpstra, O.; Wilson, J.:**

Selective accumulation of endogenously produced porphyrins in a liver metastasis model in rats.

Gastroenterology 103(2), 647-651 (1992).

**177. Wagner, G. :**

Epidemiologie des Krebses.

In : Gross, R. ; Schmidt, C.G. (Hrsg.) : Klinische Onkologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart – Newyork (1985).

**178. Wangerin, K; Ewers, R.; Sauer, M.; Randzio, G. :**

Aussagekraft verschiedener Diagnoseverfahren bei Plattenepithelkarzinomen von Gesichtsschädel und Mundhöhle im Vergleich zur histologischen Auswertung.

Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 14, 25-31 (1990).

**179. Webber, J.; Kessel, D.; Fromm, D.:**

Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid.

J Surg Res 68(1), 31-37 (1997a).

**180. Weber, W.; Reuther, J.; Mühling, J.; Ordnung, R.; Michel, Ch. :**

Statistische Erhebungen bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle, Krankengut 1981 bis 1990.

Fortschr Kiefer Gesichtschir Bd. 37, 33-36 (1992).

**181. Wehner, J.; Marley, R.:**

Genetic differences in the effects of delta-aminolevulinic acid on seizure latency in mice.

Exp Neurol 94, 280-291 (1986).

**182. Wohlgemuth, B. :**

Leukoplakie. Geschwülste der Mundhöhle und Gesichtshaut.

In: Allgemeine und spezielle Pathologie, 2. Aufl., 225-228, Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig (1990).

**183. Wolf, P.; Rieger, E.; Kerl, H.:**

Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5-aminolevulinic acid.

An alternative treatment modality for solar keratoses, superficial squamous cell carcinomas, and basal cell carcinomas?

J Am Acad Dermatol 28(1), 17-21 (1993).

**184. Zawirska, B.:**

Comparative porphyrin content in tumors with contiguous non-neoplastic tissues.  
Neoplasma 26, 223-229 (1979).

**185. Zenk, W.; Dietel, W.; Schleier, P.; Günzel, S.:**

Visualisierung von Karzinomen der Mundhöhle durch Stimulierung der Synthese von fluoreszierendem Protoporphyrin IX.  
Mund-Kiefer-Gesichtschir. Jul; 3(4):205-209 (1999).

## Lebenslauf

Name, Vorname	Lighvani, Ahmad Reza
Geburtsdatum	21.07.1969
Geburtsort	Tabriz / Iran
1976 - 1981	Grundschule
1982 - 1988	Gymnasium
1988	Abitur
1988 - 1990	Militärdienst
1990 - 1993	Fachschulausbildung zum Zahntechniker, Teheran
1993 - 1994	Studienkolleg Nordhausen und Erwerb der deutschen Hochschulzugangsberechtigung
1994 - 1996	Studium der Humanmedizin an der Friedrich - Schiller Universität Jena
1996 - 2001	Studium der Zahnmedizin an der Friedrich - Schiller Universität Jena
Januar 2001	Staatsexamen Zahnmedizin
Seit März 2001	Beginn mit der Dissertation
05/2001 - 12/2002	Pflegetätigkeit im ambulanten Pflegedienst Münchenstift, München
April 2002	Erlangung der Approbation als Zahnarzt
01/2003 - 10/2003	Assistenz Zahnarzt in der Praxis von Herrn Dr. Olaf Noack in Monheim
11/2003 - 12/2004	Assistenz Zahnarzt in der Praxis von Herrn Zahnarzt Gould und Partnerinnen in Grefrath
Seit 01.01.2005	als Niedergelassener Zahnarzt in Bremen tätig.

Worpswede, 05.05.2006

Unterschrift:

**Ehrenwörtliche Erklärung:**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. Dr. W. Zenk und Herr Oberarzt P. Schleier,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.